

ORSAY
Série A n°
N° d'ordre
461

Inscrit aux Archives
originales du Centre de
documentation C.N.R.S.
sous le N° A.O. 2957

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

Jean MAMBRINI

AGRÉGÉ DE L'UNIVERSITÉ

1^{re} Thèse :

**Influence des agents modifiant la durée du
potentiel d'action présynaptique sur la libération du médiateur
à la jonction neuro-musculaire de grenouille.**

2^{me} Thèse :

Propositions données par la Faculté

SOUTENUES LE MARS 1969, DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

M. BENOIT : PRÉSIDENT

M. CORABŒUF

M. COUTEAUX

M. GERSCHENFELD

} EXAMINATEURS

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

Jean MAMBRINI

AGRÉGÉ DE L'UNIVERSITÉ

1^{re} Thèse :

**Influence des agents modifiant la durée du
potentiel d'action présynaptique sur la libération du médiateur
à la jonction neuro-musculaire de grenouille.**

2^{me} Thèse :

Propositions données par la Faculté

SOUTENUES LE MARS 1969, DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

M. BENOIT : PRÉSIDENT

M. CORABŒUF

M. COUTEAUX

M. GERSCHENFELD

EXAMINATEURS

THESIS

PRESENTED

IN CANDIDACY FOR THE DEGREE OF DOCTOR

UNIVERSITY OF TORONTO

BY

LI CHANG OF DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

JOHN MACDONALD



19 1954

Information des auteurs mentionnés dans le titre de
la thèse a été vérifiée par le bibliothécaire de l'université
à la fin de la période de vérification de la thèse.

19 1954

Propositions données par le bibliothécaire

La thèse a été déposée le 19 mai 1954 à la bibliothèque de l'université.

M. BENOIT
M. CORBET
M. GOUTEAU
M. JENNINGS
EXAMINATEUR

A V A N T - P R O P O S

Ce travail a été réalisé au Laboratoire
de Physiologie Générale de la Faculté des Sciences d'Orsay
(Directeur : Professeur Paul H. BENOIT)

Il m'est très agréable de remercier ici Monsieur le
Professeur BENOIT qui, après m'avoir enseigné la Physiologie
m'a accueilli dans son laboratoire et orienté vers l'étude des
problèmes de la transmission synaptique. Ses conseils et ses
critiques m'ont été extrêmement utiles au cours de ce travail;
qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie Monsieur le Professeur CORABOEUF d'avoir
bien voulu examiner ce travail après m'avoir si souvent prodigué
ses encouragements.

J'exprime également ma gratitude à Monsieur le Professeur
COUTEAUX et à Monsieur le Professeur GERSCHENFELD qui m'ont fait
l'honneur de bien vouloir participer à ce jury.

Je remercie Monsieur le Professeur CHEVALLIER de l'intérêt bienveillant qu'il m'a toujours témoigné.

Je tiens à remercier Pierre BENOIT pour son amicale et précieuse collaboration ainsi que Claude BERGMAN pour de nombreuses et fécondes discussions.

J'exprime mon affectueuse gratitude à mon épouse pour son fidèle soutien au cours de ce travail.

Je remercie enfin le personnel du laboratoire dont le concours m'a toujours été extrêmement précieux et particulièrement Madame SOURIOU qui a assuré la mise en forme du présent mémoire.

I N T R O D U C T I O N

La surface où le neurone entre en contact avec les cellules innervées par lui a été appelée "synapse" par SHERRINGTON. La transmission synaptique est le phénomène par lequel l'état d'activité de la cellule présynaptique déclenche l'activation de la cellule postsynaptique.

On connaît deux types fondamentalement différents de transmission synaptique : la transmission électrique, qui semble assez exceptionnelle, et la transmission chimique. La transmission électrique résulte de la stimulation de l'élément effecteur (élément postsynaptique) par les courants locaux dûs à l'arrivée du potentiel d'action dans la terminaison présynaptique. Dans ce cas il n'y a pas de modification fondamentale dans le mode de propagation du signal nerveux au cours de son passage d'une cellule à la cellule suivante.

La transmission chimique, par contre, fait intervenir une substance appelée médiateur, issue de l'élément présynaptique et diffusant dans l'espace synaptique vers la cellule effectrice. Ce type de transmission implique les étapes suivantes:

- production et stockage par l'élément présynaptique du médiateur spécifique.

- libération par l'influx nerveux de cette substance dans l'espace intercellulaire.

- combinaison du médiateur avec des sites récepteurs privilégiés de la cellule effectrice.

- déclenchement de l'activité postsynaptique.

La combinaison médiateur-sites récepteurs provoque une variation locale de perméabilité de la membrane postsynaptique. Selon les synapses, le résultat de cette variation de perméabilité peut être une dépolarisation ou au contraire une hyperpolarisation de

la cellule postsynaptique. La cellule postsynaptique est activée lorsque la dépolarisation due à l'action du médiateur est suffisante pour dépasser le niveau critique de dépolarisation de la cellule. C'est le cas à la jonction neuro-musculaire classique des Vertébrés par exemple, capable de répondre coup pour coup à l'activité nerveuse. Lorsque l'action du médiateur tend au contraire à hyperpolariser ou simplement à maintenir le potentiel de membrane à une valeur proche de sa valeur de repos, la synapse est dite inhibitrice.

Le potentiel d'action peut donc induire dans la cellule postsynaptique deux états opposés selon la nature du médiateur et les caractères de la membrane postsynaptique.

Dans les centres nerveux, l'association des neurones entre eux se fait très souvent par des contacts synaptiques mettant en jeu des médiateurs chimiques. Mais généralement la cellule postsynaptique ne répond pas "coup pour coup" à l'arrivée de l'influx nerveux présynaptique. Le neurone postsynaptique n'est alors activé que si le bilan des excitations et des inhibitions dépolarise la membrane postsynaptique jusqu'à une valeur critique appelée seuil. Le rôle récepteur du neurone est donc le siège de phénomènes d'intégrations dont le rôle est capital dans le fonctionnement des centres nerveux supérieurs.

La jonction neuro-musculaire de Vertébré peut être considérée à divers titres comme un bon matériel d'étude des mécanismes élémentaires de la transmission chimique en raison de sa relative simplicité. Chez le Batracien en particulier la facilité d'accès de la préparation neuro-musculaire a permis de nombreux travaux dont les premiers remontent à un siècle.

Parmi les mécanismes assurant le fonctionnement de la transmission chimique, celui de la libération du médiateur

par l'influx nerveux pose encore de nombreux problèmes. Des travaux récents ont montré que l'amplitude et la durée d'une dépolarisation imposée à la terminaison nerveuse conditionnait la quantité de médiateur libéré. Cependant jusqu'ici le problème n'a été abordé chez le Vertébré sous l'angle des rapports entre la quantité de médiateur libéré et la durée du potentiel d'action présynaptique que dans un travail récent de KATZ et MILEDI (1967c).

Nous nous sommes proposé d'aborder cette étude. Nous avons recherché les moyens d'augmenter la durée du potentiel d'action présynaptique en sélectionnant pour les étudier divers agents capables d'augmenter la durée du potentiel d'action présynaptique. Ce problème est rendu complexe par l'intervention d'effets postsynaptiques et surtout, sur le plan technique, par l'impossibilité d'enregistrer directement le potentiel d'action de la terminaison présynaptique, dont les dimensions interdisent l'insertion de microélectrodes intracellulaires.

En appliquant les méthodes de dérivation focale des activités pré- et postsynaptiques, telles qu'elles ont été codifiées par KATZ et MILEDI, nous avons pu étudier les effets de substances allongeant la durée du potentiel d'action présynaptique sur la quantité de médiateur libéré et sur le déroulement temporel de la libération du médiateur évoquée par le potentiel d'action.

Les agents étudiés, en dehors de l'ion tétra-éthylammonium, ont été des cations divalents. Parmi ceux-ci, l'ion uranyle s'est révélé doué de propriétés particulières, propriétés que nous avons étudiées avec quelques détails, car elles nous ont paru capables de fournir des données nouvelles sur le processus conduisant à la libération du médiateur par la terminaison présynaptique.

H I S T O R I Q U E

I - EVOLUTION DES IDEES SUR LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE, MISE EN EVIDENCE D'UNE MEDIATION CHIMIQUE POUR LES JONCTIONS NEUROMUSCULAIRES.

Entre 1844 et 1858 Claude Bernard montrant que le curare empêche le déclenchement de la contraction musculaire par l'influx nerveux eut le mérite de poser le problème du passage du message nerveux du nerf au muscle. Le curare ne supprimant ni l'excitabilité du nerf, ni la contraction du muscle stimulé directement, l'auteur attribua à cet alcaloïde une propriété d'intoxication de "la partie la plus périphérique des nerfs moteurs".

Presque simultanément des histologistes, ROUGET (1862) et KUHNE (1863) mirent en évidence l'existence d'une discontinuité entre les fibres nerveuses et les fibres musculaires.

La synthèse de ces premiers résultats pharmacologiques et histologiques fut réalisée par VULPIAN (1866). Cet auteur situait l'action du curare au niveau d'une "matière organisée" entre l'extrémité de la fibre nerveuse et la cellule musculaire. Le rôle de cette matière organisée était d'établir la communication entre les deux éléments cellulaires, et VULPIAN citait en particulier, l'augmentation de durée de la transmission neuro-musculaire sous l'action du curare (VON BEZOLD, cité d'après COPPEE 1943).

VULPIAN tenta d'étendre cette conception aux communications entre nerfs sensoriels et centres nerveux mais il se heurta là au retard dans la connaissance des structures his-

tologiques des centres supérieurs. En effet la théorie réticulaire de WAGNER présentait encore les centres nerveux comme un continuum de fibres ce qui ne posait pas le problème de la transmission de l'information d'une cellule à la cellule suivante. Cette organisation était défendue entre autres par GOLGI (1890-1891) et plus tard par HELD (1905-1909).

La théorie réticulaire de la structure des centres nerveux fut battue en brèche à partir de 1886 par HISS (1886-1889) grâce à ses travaux sur le développement embryonnaire du système nerveux, puis par FOREL (1887) travaillant sur la dégénérescence des fibres nerveuses. Les résultats de leurs travaux inclinaient ces auteurs à penser que les centres nerveux sont constitués "de cellules indépendantes sans anastomoses entre elles mais en contact étroit".

RAMON Y CAJAL (1888-1890) travaillant lui aussi sur du matériel embryonnaire et utilisant les techniques de GOLGI aboutit aux mêmes conclusions. Ainsi naquit la théorie neuronique bientôt accompagnée de la description des différents types de contact entre éléments cellulaires (HELD, 1897 ; AUERBACH, 1898 ; CAJAL, 1903 ; WOLF, 1905). Elle ne devait vraiment être admise par tous qu'après 1934 à la suite de la mise au point des connaissances dans ce domaine faite par RAMON Y CAJAL dans son article "les preuves objectives de l'unité anatomique des cellules nerveuses".

La découverte de la structure discontinue du système nerveux représentait une étape certaine vers la connaissance de l'organisation des êtres vivants mais elle posait dès lors de façon précise le problème de la transmission de l'information d'une cellule à la cellule suivante.

Les observations de SHERRINGTON sur le fonctionnement

de l'arc réflexe avaient conduit cet auteur à localiser à la zone de contact entre deux neurones, les principales différences constatées entre le fonctionnement de l'arc réflexe et la simple propagation de l'influx dans le neurone. SHERRINGTON attribua à la synapse (terme créé par lui vers 1892 pour désigner le contact fonctionnel entre deux neurones) la responsabilité de la polarité de la conduction dans l'arc réflexe et la durée relativement importante de ce phénomène. Il localisa de même au niveau des synapses la fatigabilité et la sensibilité à l'anoxie du phénomène réflexe (SHERRINGTON 1906).

Pour expliquer l'activation de la cellule musculaire par l'influx nerveux KÜHNE (1859) puis KRAUSE (1863) avaient envisagé un couplage électrique entre la cellule présynaptique et la cellule postsynaptique.

DU BOIS REYMOND en 1877 proposa deux mécanismes possibles pour la transmission synaptique:

-soit un mécanisme électrique, les courants créés localement par l'arrivée de l'influx nerveux provoquant l'activation de la cellule réceptrice.

-soit un mécanisme chimique, l'influx nerveux parvenu à l'extrémité de la cellule nerveuse provoquant la libération par celle-ci d'une substance chimique excitante pour la cellule réceptrice.

Mais l'hypothèse chimique, à vrai dire déjà émise par RANKE en 1871, ne retint guère l'attention de l'auteur. TSCHIRIEV en 1879, la condamne avec vigueur, en remarquant qu'on ne connaît pas de processus "dont le produit pourrait naître et disparaître avec l'énorme rapidité nécessaire" (cité d'après LAPICQUE, 1938). Ce sont d'ailleurs des arguments du même ordre qui ont jusqu'en 1949 conduit beaucoup de

chercheurs, et non des moindres, à refuser d'admettre l'existence de médiateurs dans le cas des transmissions à caractère rapide, et à adhérer à l'hypothèse électrique pour les expliquer.

La théorie électrique de la transmission fut développée ou défendue par ROSENTHAL (1878), HERMANN (1879), CREMER (1909), LAPICQUE (1936), FORBES, RAY et GRIFFITH (1923), BREMER (1930), MONNIER (1936), ECCLES (1936). Avec l'évolution des connaissances sur les mouvements ioniques pendant le potentiel d'action, les mouvements d'ions hydroxyles (MATTHEWS, 1902) H^+ (BETHE, 1916) ou K^+ (LILLIE, 1922) furent successivement proposés comme support des courants excitant la cellule effectrice.

La théorie électrique devait progressivement laisser la place à la théorie chimique à mesure que celle-ci accumulait les présomptions ou les arguments. La controverse se termina en 1949 avec la démonstration de KUFFLER. Celui-ci plaça des électrodes de stimulation très près de la terminaison nerveuse de façon à rendre négligeable l'intervention du temps de conduction nerveuse dans la mesure du délai de transmission neuro-musculaire (KUFFLER, 1948 et 1949) ; il put montrer ainsi que l'initiation de l'activité musculaire exigeait un délai de 0,5 à 0,7 ms au cours duquel aucune activité électrique n'était décelable. Cependant les travaux de FURSHPAN et POTTER (1957) sur la synapse géante de Crustacé, de FURUKAWA et FURSHPAN (1963) sur la cellule de Mauthner des Poissons et enfin de MARTIN et PILAR (1963) sur le ganglion ciliaire de Poulet, ont montré depuis, sans contestation possible, qu'un couplage électrique existe pour certaines synapses.

La théorie chimique de la transmission proposée comme alternative à la théorie électrique par DU BOIS REYMOND resta assez imprécise jusqu'en 1904, date à laquelle ELLIOT suggéra

que les nerfs sympathiques pouvaient stimuler leurs effecteurs en libérant de l'adrénaline. Cette suggestion était faite à propos de la mise en jeu de la musculature lisse. Deux ans après une substance "semblable à la muscarine" fut proposée par DIXON (1906) comme médiateur du système nerveux parasympathique.

DALE (1914) étudia les ressemblances entre les effets des esters de la choline et la stimulation des nerfs parasympathiques. Il constata que "l'acétylcholine est, parmi toutes les substances essayées, celle dont l'action est la plus suggestive dans cette direction".

Revenant plus tard sur les travaux de cette époque, DALE devait dire en 1938 : "deux substances étaient connues, dont les actions reproduisaient les effets des deux grandes divisions du système nerveux autonome ; toutes deux étaient instables et présentes dans l'organisme... Ces propriétés les auraient désignées comme médiateur des effets du système nerveux autonome s'il y avait eu une quelconque évidence acceptable de leur libération par les terminaisons nerveuses. Les acteurs étaient connus et les rôles attribués..."

(d'après ECCLES, Physiology of synapses).

Cette citation montre l'importance qui doit être attribuée aux travaux de LOEWI. Celui-ci montra en effet dès 1921, que la stimulation du nerf pneumogastrique entraîne le ralentissement du rythme cardiaque et l'apparition dans le liquide de perfusion du coeur de Grenouille d'une substance parasympathomimétique. Ainsi fut mis en évidence pour la première fois la libération d'une substance "mimétique" par la stimulation d'un nerf.

Les mêmes méthodes d'investigation permirent ultérieurement à CANNON et BACQ (1931) puis à CANNON et ROSENBLUETH (1933) de mettre en évidence une autre sécrétion d'origine nerveuse : la libération d'un médiateur voisin de l'adrénaline par

la stimulation des nerfs sympathiques, médiateur qui devait être identifié à la noradrénaline par VON EULER (1946).

La série de très beaux résultats obtenus par FELDBERG et GADDUM (1934), FELDBERG et VERTIAINEN (1934), DALE, FELDBERG et VOGT (1936), BROWN, DALE et FELDBERG (1936), aboutit à étendre l'hypothèse de la transmission chimique dans le ganglion sympathique et à la jonction neuromusculaire, avec l'acétylcholine comme transmetteur (DALE, 1935, 1937, 1938).

Sur le muscle strié, DALE, FELDBERG et VOGT estimèrent à 1.10^{-17} molécule gramme, la quantité d'acétylcholine libérée par un influx nerveux au niveau d'une jonction neuromusculaire. Cette valeur est du même ordre de grandeur que les concentrations d'acétylcholine capables de déclencher l'activité électrique propagée et la contraction musculaire (NASTUK, 1953).

La préparation neuro-musculaire, en raison des dimensions relativement grandes de la cellule effectrice permet de localiser très précisément le site d'action du médiateur. C'est sur cette préparation que BUCHTAL et LINDHART (1937), KUFFLER (1943) puis NASTUK (1952), DEL CASTILLO et KATZ (1955a) ont mis en évidence la sensibilité exceptionnelle à l'acétylcholine de la partie innervée de la cellule musculaire. Nous devons cependant rappeler à ce propos les travaux de LANGLEY (1907 et 1909) qui le premier avait observé une différence de sensibilité à la nicotine, entre la région innervée de la fibre musculaire et le reste de cette cellule. LANGLEY décrivit en outre l'effet inhibiteur du curare sur la sensibilité de la synapse à la nicotine. Ces travaux permettent de considérer LANGLEY comme l'un des principaux artisans de la théorie de la transmission chimique, et comme l'inspirateur des travaux de SIMONART (1935), de BROWN et Coll. (1936, 1937), de BACQ et BROWN (1937), de BOLLY

et BACQ (1938), d'ABDON (1940).

MARNAY et NACHMANSON (1937), FENG (1938), COUTEAUX (1942) montrèrent qu'une cholinestérase est localisée en abondance sur la membrane postsynaptique de la jonction neuromusculaire. La présence de cette enzyme, en assurant la destruction rapide de l'acétylcholine, permet à la membrane postsynaptique de retrouver rapidement son état initial et à la synapse de fonctionner à une fréquence élevée (200 cycles par seconde environ).

La compétition entre la théorie électrique et la théorie chimique fut extrêmement bénéfique au progrès de nos connaissances. La théorie chimique stimula le développement de la recherche dans le domaine de la pharmacologie avec des auteurs comme BACQ (1937), BROWN (1937), DALE (1937, 1938), KOELLE et GILMAN (1949), HUNT et KUFFLER (1950), ROSENBLUETH (1950), RIKER (1953) et MINZ (1955). De même la théorie électrique entraîna une étude approfondie des événements électriques dans les éléments pré- et postsynaptiques (travaux de KUFFLER 1949, 1952 ; KATZ et SCHMITT 1939 ; ARVANITAKI 1942 ; MARAZZI et LORENTE de NO 1944 ; GRANIT et SKOGLUND 1945).

Certains auteurs essayèrent de concilier la théorie électrique et la théorie chimique en proposant une théorie "dualiste". Celle-ci faisait intervenir un mécanisme électrique assurant une transmission rapide, et un mécanisme chimique responsable des effets postsynaptiques lents et durables constatés au niveau de certains effecteurs. Ce schéma général admettait la prédominance de l'un ou de l'autre de ces mécanismes selon les jonctions étudiées (BROWN et ECCLES, 1934 ; ECCLES, 1936, 1937, 1944 ; MONNIER et BACQ, 1935 ; ECCLES et MAGLADERY, 1937). On trouve encore des références à la théorie dualiste dans certains travaux parus entre 1940 et 1944, puisqu'on peut y relever

les phrases suivantes :

"un mécanisme plus rapide pour la transmission neuro-musculaire n'a pas à être obligatoirement postulé pour la fibre unique de Grenouille " (KUFFLER, 1942) ou encore "le besoin d'une hypothèse électrique plus développée est maintenant devenu urgent puisque les récentes recherches montrent que l'acétylcholine ne joue qu'un rôle subsidiaire à la jonction ganglionnaire et un rôle négligeable aux jonctions de la moelle" (ECCLES, 1945).

A partir de 1938, les travaux des électrophysiologistes établirent les bases des connaissances actuelles sur la transmission neuro-musculaire.

En étudiant le mécanisme intime de la stimulation du muscle par l'influx nerveux GÖPFERT et SCHAEFER (1938), ECCLES et O'CONNOR (1939), FENG (1940-1941) mirent en évidence l'existence d'une onde électrique lente non propagée (potentiel de plaque motrice) totalement différente de l'activité électrique propagée, et constituant le premier signe électrique décelable de l'action de l'influx nerveux sur la membrane postsynaptique.

ECCLES, KATZ et KUFFLER (1941) étudièrent les variations électriques dont la fibre musculaire curarisée est le siège pendant les phénomènes de transmission. Ils montrèrent que le potentiel de plaque motrice (end-plate potential des auteurs de langue anglaise) est assimilable, au moins dans sa phase terminale, à une variation électrotonique et ils en mesurèrent les caractéristiques d'amplitude et de durée. L'étude des variations d'amplitude et de durée du potentiel de plaque motrice en fonction de la température avait fourni à ces auteurs, un argument en faveur de l'existence d'un phénomène chimique au cours de la transmission neuro-musculaire et d'en définir la durée probable (voir cependant TAKEUCHI, N. 1958). La description de l'action

d'un inhibiteur de la cholinestérase, l'ésérine, sur l'amplitude et la durée du potentiel de plaque motrice apporta une preuve supplémentaire en faveur de la théorie chimique (ECCLES, KATZ et KUFFLER 1942).

Jusqu'en 1941 l'étude de la transmission neuro-musculaire avait été faite sur des préparations comprenant un grand nombre de fibres musculaires (soléaire de Chat, couturier de Grenouille ou muscles de Crustacés). L'année 1942 doit donc être considérée comme une étape importante dans l'étude de la transmission synaptique. En effet cette année-là, KUFFLER parvint à étudier finement les phénomènes synaptiques chez le Batracien, en utilisant une fibre musculaire innervée, séparée du reste du muscle. Ce progrès considérable de la technique expérimentale permit en effet à KUFFLER d'obtenir des enregistrements de potentiel de plaque motrice relativement purs, en isolant la région de la jonction neuro-musculaire dans l'huile de paraffine et en plaçant une électrode de surface à l'endroit optimum d'enregistrement ainsi déterminé. Dans ces conditions KUFFLER montra que le potentiel d'action musculaire est déclenché par le potentiel de plaque motrice qui le précède dans le temps, et que le curare intervient dans le mécanisme de la transmission synaptique en diminuant l'amplitude du potentiel de plaque motrice.

La diminution de l'impédance de la membrane musculaire pendant le potentiel de plaque motrice et les ressemblances existant entre le potentiel de plaque motrice et un catélectrotonus non propagé sont des connaissances acquises cette même année grâce aux travaux de KATZ (1942).

Puis KUFFLER décrivit avec clarté :

- l'indépendance des sites d'action du curare et de l'ésérine.

- la sensibilité privilégiée de la plaque motrice à l'acé-

tylcholine, la caféine et la nicotine (KUFFLER, 1943),

-la diminution de cette sensibilité par le curare (KUFFLER, 1943),

-les effets de la dégénérescence du nerf moteur sur la sensibilité postsynaptique à l'acétylcholine (KUFFLER, 1943),

-les effets pré- et postsynaptiques du calcium (KUFFLER 1944).

Les techniques d'enregistrement extracellulaire utilisées jusque là ne permettaient guère de pousser plus loin l'étude des mécanismes fondamentaux de la transmission synaptique.

Aussi la mise au point des techniques d'enregistrement par microélectrode intracellulaire donna-t-elle un nouvel essor à cette étude.

FATT et KATZ utilisèrent cette technique pour la première fois à la jonction neuro-musculaire en 1951. Depuis cette date de nombreux travaux ont permis à la connaissance des mécanismes de la transmission neuro-musculaire de progresser considérablement. Ces travaux récents sont exposés dans la deuxième partie de notre historique.

II - TRAVAUX CONTEMPORAINS SUR LA JONCTION NEURO-MUSCULAIRE DES BATRACIENS.

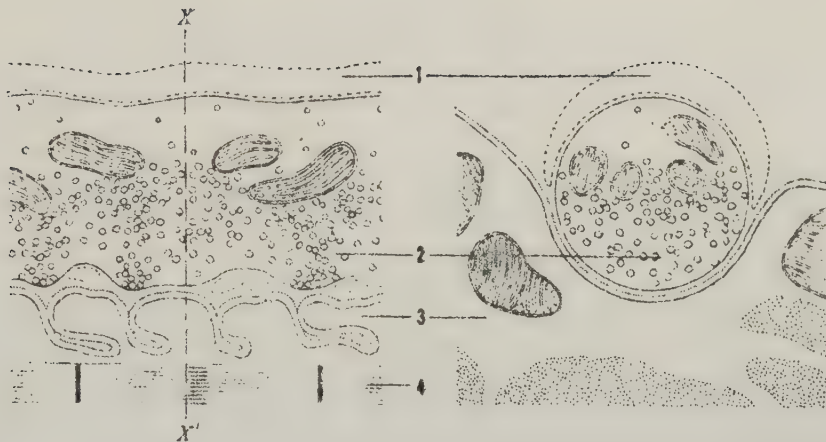
DONNEES CYTOLOGIQUES

Les travaux récents en microscopie optique aussi bien qu'en microscopie électronique ont confirmé les résultats essentiels des anciens histologistes.

Au contact de la cellule musculaire qu'il innerve, l'axone perd sa gaine de myéline et se ramifie en branches très

finies. Ces ramifications établissent une série de contacts avec une région spécialisée du myone : la plaque motrice. Les ramifications nerveuses et la plaque motrice sont riches en mitochondries. Les ramifications nerveuses s'étendant longitudinalement sur une distance de 50 à 300 μ , sont partiellement enfouies dans des gouttières (gouttières neurales) de la plaque motrice et recouvertes par des cellules de Schwann (téloglie). En microscopie optique on observe la présence d'une "membrane" entre les deux éléments cellulaires. Cette membrane au côté musculaire présente une structure particulière appelée appareil sous-neural (cf. COUTEAUX, 1946). L'examen au microscope électronique montre que la cellule nerveuse et la cellule musculaire conservent en réalité leurs membranes respectives. Celles-ci sont séparées par un espace d'environ 200 Å s'ouvrant vers l'extérieur sur les bords des gouttières neurales. La membrane musculaire sous-neurale est caractérisée par des invaginations dont l'orientation générale est perpendiculaire à l'axe de l'axone. Ces invaginations représentent un accroissement important de la surface réceptrice de la jonction (fig.1). Les observations en microscopie optique aussi bien qu'en microscopie électronique montrent une importante concentration d'acétylcholinestérase dans les invaginations de la membrane musculaire au niveau de la face externe de cette dernière. L'acétylcholinestérase reste présente même après dénervation ce qui est un argument supplémentaire en faveur de la localisation postsynaptique de cet enzyme (KOELLE et FRIEDENWALD, 1949 ; COUTEAUX et TAXI, 1952 ; DENTZ, 1953 ; COUTEAUX, 1958).

La terminaison nerveuse (fig.1) est riche en vésicules d'environ 500 Å de diamètre groupées approximativement en face des invaginations postsynaptiques (BIRKS, HUXLEY et KATZ 1960). Ces vésicules présynaptiques sont caractéristiques des jonctions à transmission chimique et on a souvent émis l'hypo-



- Figure 1 -

Dessin semi-schématique de jonction neuro-musculaire observée au microscope électronique (Grenouille). A gauche section parallèle à l'axe de la terminaison nerveuse et à droite section transversale perpendiculaire au niveau de XX' à cet axe. 1, cellule de Schwann (dessin pointillé) ; 2, terminaison axonique avec mitochondries et vésicules ; 3, sarcoplasme avec mitochondries ; 4, myofibrilles. D'après COUTEAUX, 1963.

thèse qu'elles constituaient le support matériel des quanta de médiateur (DE ROBERTIS et BENNETT 1955 ; DEL CASTILLO et KATZ 1955b, 1956b ; PALAY 1956). Dans une étude récente HUBBARD et KWANBUNBUMPEN (1968) ont mis en évidence une relation entre la disposition de ces vésicules et l'état d'activité de l'élément présynaptique.

La choline-acétyltransférase (ou choline-acétylase) enzyme jouant un rôle primordial dans la synthèse de l'acétylcholine, se trouve en abondance dans l'élément présynaptique.

FONCTIONNEMENT DE LA SYNAPSE NEURO-MUSCULAIRE

CHEZ LA GRENOUILLE .

A.- INTRODUCTION.

La cellule musculaire est le siège d'une activité propagée lorsque l'influx nerveux (potentiel d'action) parvient à la terminaison nerveuse. L'activité propagée dans le muscle est à son tour responsable de l'initiation du phénomène contractile. Le problème est donc de savoir comment le passage de l'état de repos à l'état d'activité de la membrane musculaire est provoqué par l'arrivée de l'influx nerveux.

1/- Le potentiel de membrane.

La cellule musculaire comme la cellule nerveuse est limitée par une membrane sélectivement perméable aux ions. La concentration en ions potassium (K^+) est plus élevée à l'intérieur qu'à l'extérieur de la cellule ; la concentration en ions sodium (Na^+) est plus élevée à l'extérieur qu'à l'intérieur. Le potentiel de membrane que l'on peut mesurer en plaçant une micro-électrode dans la cellule musculaire au repos est d'environ 90 mV (intérieur négatif). Ce potentiel est voisin du potentiel calculé à l'aide de l'équation de NERNST à partir des concentra-

tions intérieures et extérieures de potassium :

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{(K)_i}{(K)_e}$$

Dans cette relation E est la différence de potentiel en volt entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule, R est la constante des gaz parfaits, T la température absolue, F le Faraday, $(K)_e$ et $(K)_i$ les concentrations extérieures et intérieures de potassium.

Lorsque la cellule musculaire est envahie par le potentiel d'action. Le potentiel de membrane change de signe, l'intérieur devenant positif par rapport à l'extérieur. Sa valeur est du même ordre de grandeur que le potentiel calculé par l'équation de NERNST à partir des concentrations intérieures et extérieures de sodium :

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{(Na)_i}{(Na)_e}$$

En réalité la membrane n'est jamais exclusivement perméable à l'un ou l'autre de ces ions et le potentiel de membrane est donné par une relation plus générale (GOLDMAN, 1943 ; HODGKIN et KATZ, 1949) :

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K (K)_i + P_{Na} (Na)_i + P_{Cl} (Cl)_e}{P_K (K)_e + P_{Na} (Na)_e + P_{Cl} (Cl)_i}$$

P est le coefficient de perméabilité de la membrane pour un ion donné.

2/- Le potentiel d'action, interprétation dans la théorie de HODGKIN.

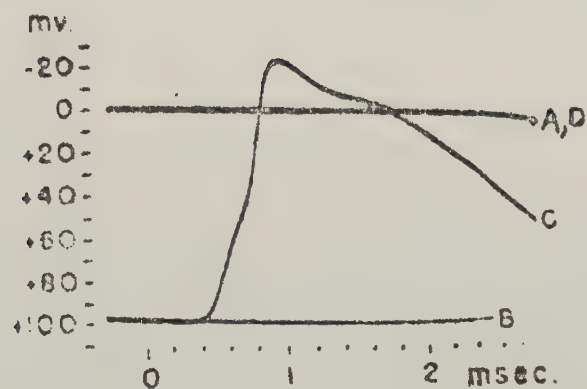
Le potentiel d'action est une onde de dépolarisation

propagée qui caractérise l'état d'activité des membranes excitables. Le passage de l'état de repos à l'état d'activité de la membrane musculaire est obtenu lorsque le potentiel de membrane est porté à un niveau de dépolarisation critique E_c appelé seuil. Lors d'une dépolarisation la perméabilité de la membrane pour le sodium est rapidement et considérablement augmentée. La membrane est alors le siège d'un courant entrant de sodium qui provoque sa dépolarisation. La dépolarisation est rendue régénérative par le fait que la conductance de la membrane pour les ions sodium est accrue à son tour par la diminution du potentiel de membrane. Le retour aux conditions initiales est réalisé par l'inactivation de la perméabilité au sodium et par l'accroissement de la perméabilité au potassium (HODGKIN, 1951 ; HODGKIN et HUXLEY, 1952).

On pourrait concevoir que le passage du potentiel de membrane musculaire de sa valeur de repos à la valeur critique E_c soit dû aux courants locaux dont la terminaison nerveuse est le siège lorsqu'elle est envahie par le potentiel d'action. Cette explication ne peut être retenue pour les raisons suivantes :

a) une transmission électrique serait instantanée. Cela n'est pas compatible avec le délai observé à la jonction neuromusculaire entre l'arrivée du potentiel d'action nerveux à la terminaison et le début de l'activation de la membrane musculaire (KUFFLER, 1948, 1949 ; KATZ et MILEDI, 1965b).

b) si l'on admet avec ECCLES et JAEGER (1958) une résistivité de 100 ohm.cm pour l'espace synaptique et une résistance spécifique de 500 ohm.cm² pour la membrane musculaire, le circuit parcouru par les courants locaux traversant la membrane nerveuse en état d'activité est refermé essentiellement à travers l'espace synaptique. Le calcul montre que dans ce cas moins de 1% du cou-



- Figure 2 -

Exemple d'enregistrement intracellulaire des potentiels de repos et d'action recueillis au centre de la plaque motrice (ceuturier de Grenouille). A et D : Tracés obtenus la microélectrode se trouvant en dehors de la fibre, au début et à la fin de l'expérience. B et C : Tracés obtenus après pénétration de la microélectrode, en B la fibre est au repos ; en C, activité consécutive à la stimulation du nerf moteur. D'après NASTUK, 1953.

rant local traverse la membrane postsynaptique et que le potentiel de membrane musculaire ne peut être porté jusqu'à la valeur E_c .

Nous savons depuis les travaux de DALE et ses collaborateurs que la transmission neuro-musculaire fait intervenir un médiateur, l'acétylcholine. Nous allons maintenant exposer les principaux aspects électrophysiologiques du mécanisme de la transmission chimique à la synapse neuro-musculaire du muscle strié chez le Batracien.

B. - LE POTENTIEL DE PLAQUE MOTRICE.

Le potentiel d'action musculaire recueilli à l'aide d'une microélectrode piquée dans la cellule au niveau de la plaque motrice présente un décours temporel différent selon que le muscle a été stimulé par l'intermédiaire de son nerf (stimulation indirecte) (fig. 2) ou par stimulation directe des fibres musculaires.

Le potentiel d'action évoqué par stimulation indirecte présente un léger décrochement au début de la phase de dépolarisation, puis un "plateau" après le maximum atteint par la dépolarisation propagée (FATT et KATZ 1951). Le niveau de potentiel auquel est maintenu ce plateau est voisin de -15 mV. L'amplitude de ce potentiel d'action est légèrement inférieure à l'amplitude du potentiel d'action évoqué par stimulation directe et recueilli au même endroit. Enfin la durée du potentiel évoqué par stimulation indirecte est légèrement plus grande que celle du potentiel d'action évoqué par stimulation directe.

Mise en évidence du potentiel de plaque motrice.

Après addition de curare à la solution de Ringer qui baigne le muscle, on constate que le potentiel d'action évoqué

par stimulation indirecte est progressivement retardé par rapport à la première dépolarisation décelable sur l'enregistrement. La stimulation indirecte n'évoque plus alors qu'une réponse dont l'amplitude est diminuée par une augmentation de la concentration en curare. Cette réponse de faible amplitude, déjà décrite par GOPPERT et SCHAEFER (1938) et par ECCLES et O'CONNOR (1939) est appelée potentiel de plaque motrice (ppm). On sait depuis les travaux de ECCLES, KATZ et KUFFLER que le ppm résulte de l'action du médiateur, libéré par la membrane présynaptique, sur la membrane postsynaptique. Le ppm ne peut être recueilli avec son amplitude maximum qu'à la plaque motrice et son déroulement temporel ne peut être totalement déterminé qu'en l'absence d'activité propagée. Le ppm est donc étudié sur des préparations dont la transmission a été bloquée : soit par addition de curare à la solution de Ringer, soit par diminution de la concentration en calcium et addition de magnésium (KUFFLER, 1944 ; DEL CASTILLO et STARK, 1952 ; DEL CASTILLO et ENGBAER, 1954 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1954b ; DODGE et RAHAMIMOFF, 1967), soit par appauvrissement du Ringer en sodium.

Le ppm est dû à l'action du transmetteur libéré par l'arrivée de l'influx nerveux dans la terminaison présynaptique. Ce transmetteur possède les mêmes propriétés pharmacologiques que l'acétylcholine.

1/- Nature du potentiel de plaque motrice.

La dépolarisation de la membrane musculaire pendant le ppm est due à une augmentation simultanée de la perméabilité de la membrane au sodium et au potassium (FATT et KATZ, 1951 ; TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1959, 1960). Ces ions se déplacent alors suivant leur gradient électrochimique et pendant l'action du médiateur le potentiel de membrane tend vers une valeur voisine

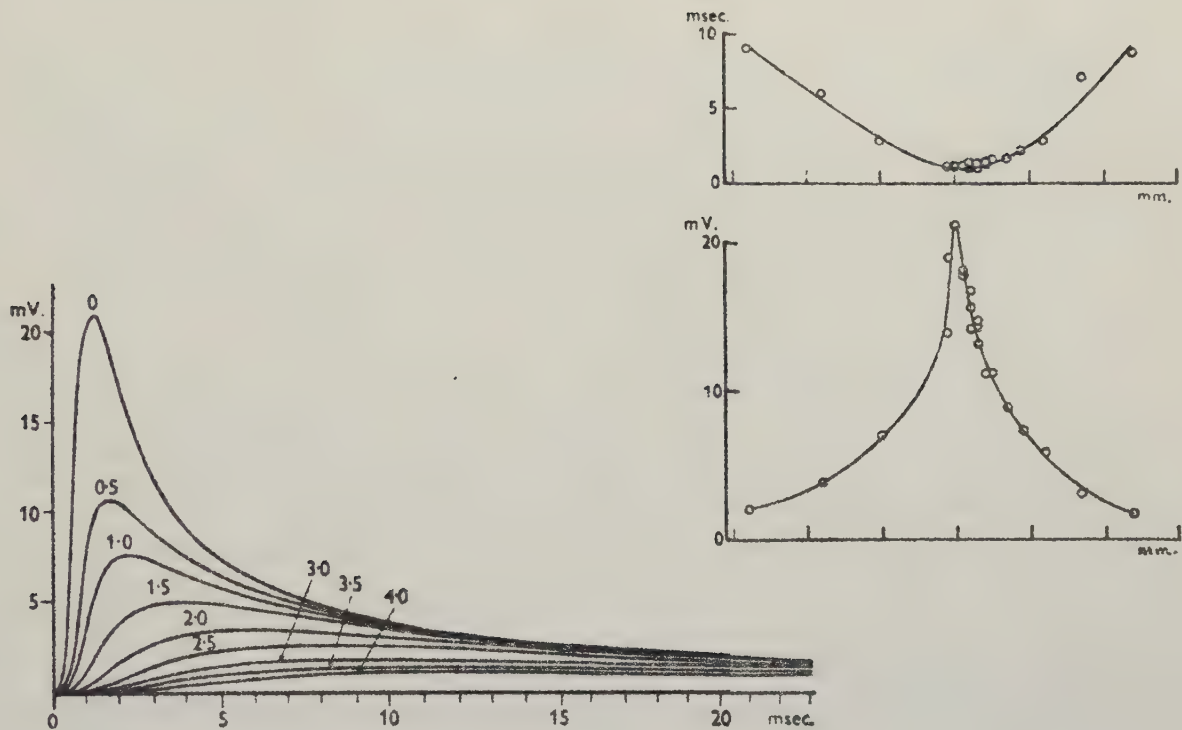
de zéro (-15 mV environ) quelle que soit la valeur du potentiel de repos. L'amplitude du ppm est donc fonction du potentiel de repos de la membrane.

L'augmentation de perméabilité de la membrane pendant le ppm a été comparée à un court-circuit (FATT et KATZ, 1951). En effet la conductance de la membrane est considérablement accrue ; elle est très supérieure à la conductance de la membrane pendant le potentiel d'action propagé (KATZ, 1958 ; TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1960). La chute de potentiel qui en résulte lorsque la jonction n'est pas bloquée suffit à déplacer le potentiel de membrane jusqu'à la valeur critique E_c .

2/- Décours temporel du ppm

La durée du ppm est d'environ 20 ms lorsque l'électrode d'enregistrement est placée dans la région de la plaque motrice où son amplitude est maximum. Lorsque l'électrode est éloignée de la région de la plaque motrice, l'amplitude du ppm et son décours temporel sont modifiés (fig. 3). Au point optimum d'enregistrement, la durée de la phase de dépolarisation du ppm (phase ascendante sur les tracés) est comprise entre 1 et 1,5 ms à 20°C. La phase de repolarisation (phase descendante du tracé) dure environ 18 ms. Le temps de demi-repolarisation compris entre le maximum de la dépolarisation et le retour à mi-amplitude du ppm est de l'ordre de 2 ms.

L'action du transmetteur sur la membrane postsynaptique est contemporaine de la phase ascendante et du début de la phase descendante du ppm. La phase lente de la repolarisation est par contre un phénomène passif tributaire seulement des propriétés électriques de la membrane musculaire (ECCLES, KATZ et KUFFLER, 1941 ; KUFFLER, 1942 ; KATZ, 1948 ; FATT et KATZ, 1951 ; TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1959 ; FALK et FATT, 1964).



- Figure 3 -

A gauche : enregistrements de potentiels de plaque motrice à différentes distances du point d'amplitude maximum. La superposition des différentes traces a été réalisée en prenant comme origine des temps l'artefact de stimulation. Les nombres sur chaque trace indiquent la distance en mm, entre le point d'enregistrement et le point d'amplitude maximum.

A droite : relation entre le temps de montée du ppm et la distance entre le point d'enregistrement et le point d'amplitude maximum du ppm (en haut) et relation entre l'amplitude du ppm et la distance le long de la fibre musculaire (en bas).

D'après FATT et KATZ, 1951.

3/- Action d'agents pharmacodynamiques sur le potentiel de plaque motrice.

Le mécanisme intime par lequel la présence de médiateur provoque des variations de perméabilité de la membrane postsynaptique pendant le ppm est encore assez obscur. On admet l'existence, à la surface de la membrane postsynaptique, de "sites récepteurs" avec lesquels l'acétylcholine se combinerait, provoquant les variations de perméabilité de la membrane.

Certaines substances peuvent entrer en compétition avec l'acétylcholine pour se fixer sur les sites récepteurs (JENKINSON, 1960). C'est le cas du curare dont la combinaison avec les sites récepteurs n'entraîne pas la dépolarisation de la membrane postsynaptique. La présence de curare se traduit seulement par une diminution de l'amplitude du ppm.

D'autres substances douées elles aussi de propriétés compétitives avec l'acétylcholine sont en outre capables de dépolariser la membrane lorsqu'elles sont appliquées à la plaque motrice. Parmi elles on trouve la nicotine (LANGLEY, 1907, 1909) ou le décaméthonium (BURNS et PATON, 1951 ; RIKER, 1953 ; AIMIS, 1953, BOVET et BOVET-NITTI, 1959 ; ROBERTS et THESLEFF, 1965).

La cholinestérase présente à la plaque motrice hydrolyse l'acétylcholine et limite ainsi la durée de son action. Certaines substances telles que l'ésérine et la prostigmine ont la propriété d'inactiver les cholinestérases. La présence de ces substances anticholinestérasiques dans la solution de Ringer a pour effet de prolonger l'action de l'acétylcholine, et par suite d'augmenter l'amplitude et la durée des différentes phases du ppm (FATT et KATZ, 1951 ; GOLDSTEIN, 1952).

4/- Applications ionophorétiques d'acétylcholine à la plaque motrice.

Les applications ionophorétiques d'acétylcholine ont montré que l'amplitude de la dépolarisation postsynaptique par le médiateur était fonction de la quantité d'acétylcholine appliquée. (NASTUK et ALEXANDER, 1954 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1955a ; KATZ, 1958). De très petites quantités d'acétylcholine sont suffisantes pour dépolariser la membrane postsynaptique (10^{-15} à 10^{-16} M). Par contre les sites récepteurs peuvent être inactivés par l'application de quantités importantes d'acétylcholine (fig. 4), (KATZ et THESLEFF, 1957b).

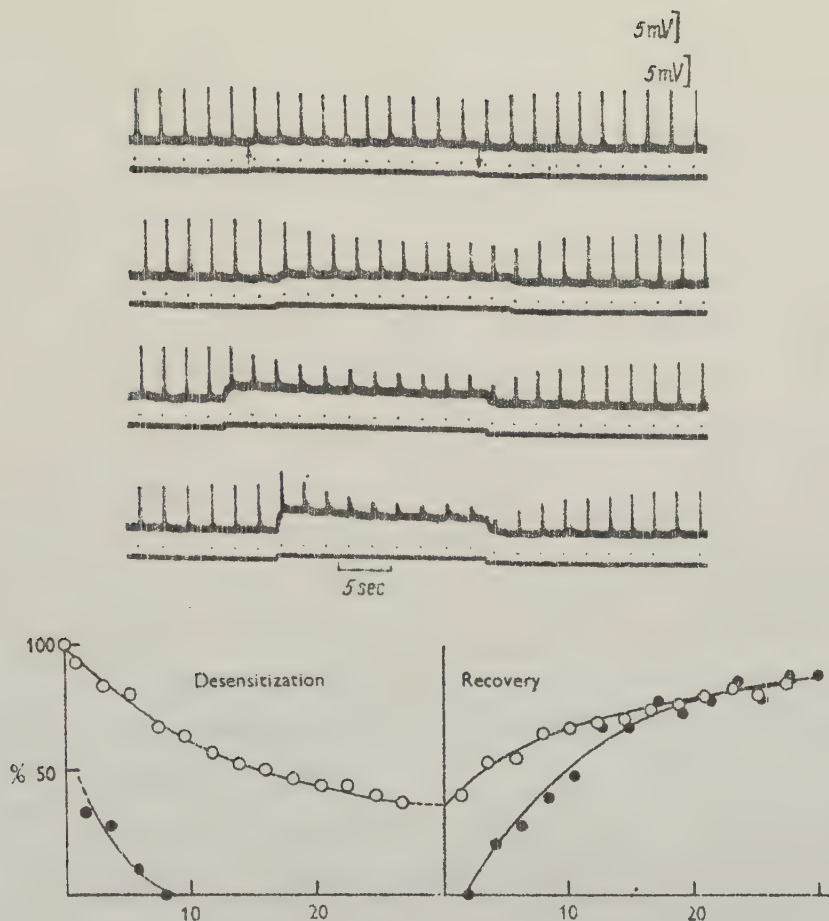
Les agents pharmacodynamiques précédemment cités ont, sur les potentiels d'acétylcholine obtenus par application ionophorétique à la plaque motrice, les mêmes effets que sur le ppm (NASTUK et ALEXANDER, 1954 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1957a, 1957b, 1957c ; KATZ, 1958).

La membrane postsynaptique est un appareil particulièrement adapté à la détection de l'acétylcholine libérée par la terminaison présynaptique. C'est à travers les variations d'amplitude et de durée du ppm que peuvent être analysées les modifications intervenant dans la libération du médiateur par l'élément présynaptique.

C. - LIBERATION DU MEDIEUR PAR L'ELEMENT PRESYNAPTIQUE.

1/- Libération spontanée de médiateur.

A l'aide d'une microélectrode placée dans la cellule musculaire au niveau de la plaque motrice on peut déceler des variations de potentiel de faible amplitude, se produisant spontanément et à des intervalles de temps irréguliers en l'absence de toute stimulation du nerf et dont le décours temporel



- Figure 4 -

Mise en évidence de la désensibilisation postsynaptique à l'acétylcholine à la jonction neuro-musculaire de Grenouille. Des applications ionophorétiques répétées de petites doses d'acétylcholine jouent le rôle de réponses test ; la désensibilisation est obtenue par une application ionophorétique massive d'acétylcholine. (L'application massive d'acétylcholine entraîne une dépolarisation continue pendant toute sa durée). Les courbes au bas de la figure montrent la variation de l'amplitude de la réponse test en fonction du développement de la désensibilisation dans une expérience semblable à celle décrite ci-dessus. (KATZ et THESLEFF, 1957).

est analogue à celui du potentiel de plaque motrice. Pour cette raison, FATT et KATZ (1952) ont proposé de les dénommer potentiels de plaque motrice miniatures. Les agents pharmacodynamiques (tels le curare et les substances anticholinestérasiques) ont sur les ppmm des effets de même nature que sur le ppm :

- l'amplitude des ppmm est diminuée par le curare,
- l'amplitude et la durée des ppmm sont augmentées par les substances anticholinestérasiques.

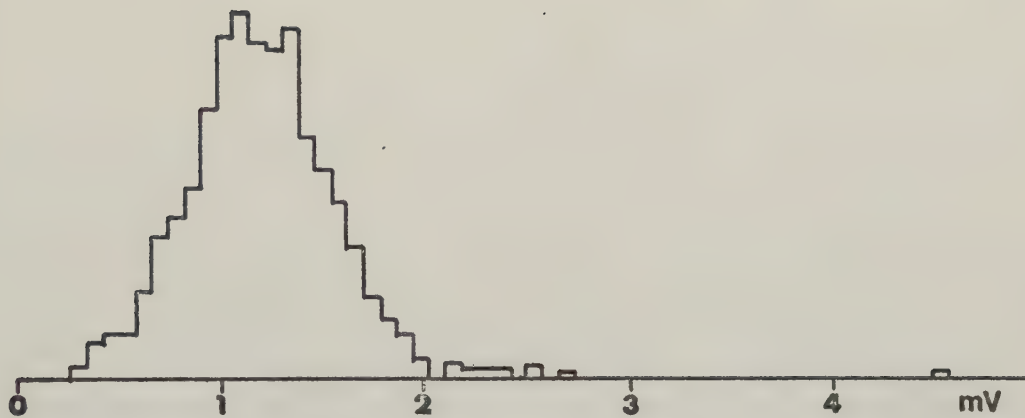
La faible amplitude des ppmm et leur sensibilité aux agents pharmacodynamiques montrent que les ppmm résultent de la dépolarisation de la membrane postsynaptique par de faibles quantités de médiateur. La variation de potentiel pendant un ppmm est due à un accroissement local et transitoire de la conductance membranaire semblable à l'accroissement de conductance qui intervient au cours du ppm (DEL CASTILLO et KATZ, 1956 ; TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1960).

L'origine des ppmm est attribuée à une libération discrète de médiateur intervenant en de nombreux points de la terminaison nerveuse. (FATT et KATZ, 1952 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1956 ; TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1960). En effet les ppmm disparaissent après la dégénérescence du nerf moteur obtenue expérimentalement (°)

a) Amplitude des ppmm. Définition du quantum de médiateur.

L'amplitude moyenne des ppmm est de 0,5 mV environ chez le Batracien en l'absence de substances anticholinestérasiques. Les amplitudes des ppmm enregistrés à une jonction neuro-

(°) Les ppmm peuvent toutefois reparaitre avec une fréquence très basse avant que la réinnervation de la jonction ait lieu. Cette réapparition des ppmm semble être en relation avec la présence de la cellule de Schwann observée parfois à la place de la terminaison nerveuse dégénérée (BIRKS, KATZ et MILEDI, 1960 ; MILEDI et SLATER, 1963 ; MILEDI et SLATER, 1968).



- Figure 5 -

Histogramme des amplitudes de 800 potentiels de plaque motrice miniatures enregistrés en présence de prostigmine.

Enregistrement réalisé à l'aide d'une microélectrode intracellulaire sur une jonction neuro-musculaire de Grenouille.

D'après FATT et KATZ, 1952.

musculaire se répartissent autour d'une valeur moyenne suivant une distribution normale (FATT et KATZ, 1952 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1954b). Un histogramme des mesures d'amplitude de 800 ppmm. publié par FATT et KATZ (1952) présente les caractéristiques suivantes (fig. 5) :

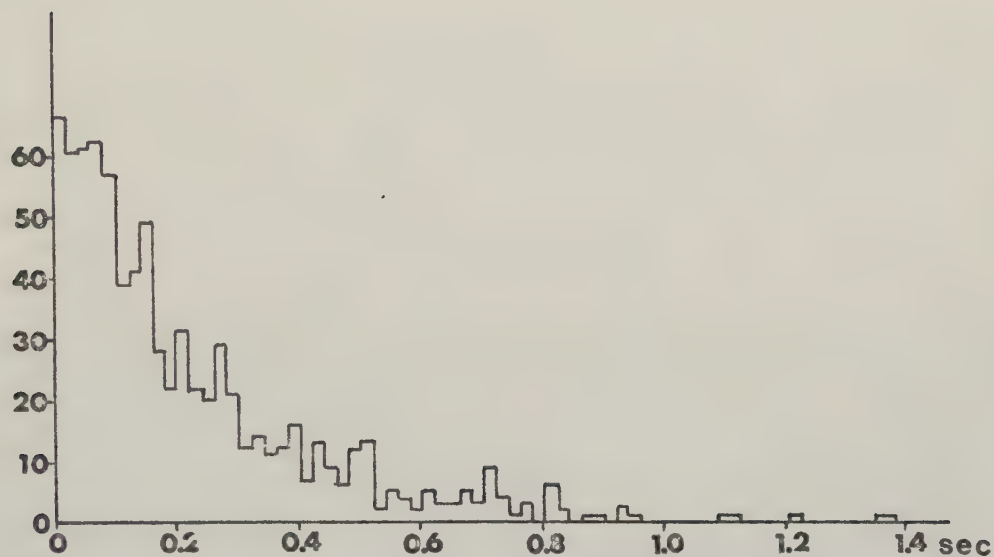
- un premier groupe de mesures dont la valeur modale coïncide avec la valeur moyenne des amplitudes des ppmm.

- deux autres groupes de mesure dont les valeurs centrales sont voisines de multiples entiers de la valeur modale du premier groupe de mesures. FATT et KATZ ont montré que les ppmm dont les amplitudes figurent dans ces deux derniers groupes de mesures sont en fait le résultat de la sommation de ppmm apparus simultanément en divers points de la jonction neuro-musculaire.

L'amplitude moyenne des ppmm à une jonction neuro-musculaire donnée est en relation étroite avec les caractéristiques électriques de la membrane postsynaptique. KATZ et THESLEFF (1957a) ont montré que l'amplitude des ppmm dépendait de la résistance de la membrane postsynaptique et par conséquent du diamètre de la fibre musculaire. Compte tenu des variations d'amplitude des ppmm dues aux variations de diamètre des fibres musculaires, la quantité de médiateur responsable d'un ppmm est remarquablement constante à toutes les jonctions neuro-musculaires. La quantité de médiateur responsable d'un ppmm est de l'ordre de 10^3 à 10^4 molécules d'acétylcholine et constitue un "quantum" de médiateur (FATT et KATZ, 1952 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1954b ; KATZ, 1958 ; KRNJEVIC et MITCHELL, 1961). L'amplitude des ppmm est légèrement modifiée par les variations expérimentales de la concentration en calcium dans le Ringer (TAKIUCHI N., 1963 ; MAMBRINI et BENOIT, 1964).

b) Fréquence des ppmm.

La fréquence des ppmm est variable d'une jonction



- Figure 6 -

Distribution des intervalles de temps entre deux ppmm successifs, dans une série de 800 ppmm. Le plus court intervalle de temps mesurable dans cette expérience était de 5 ms.

D'après FATT et KATZ, 1952.

neuromusculaire à une autre. Les intervalles de temps entre deux ppmm successifs sont irréguliers et on ne peut définir, pour un enregistrement de longue durée, qu'une période moyenne T et une fréquence moyenne $1/T$.

La distribution des intervalles entre deux ppmm successifs (fig. 6) est compatible avec l'hypothèse selon laquelle la probabilité P d'apparition d'un ppmm pendant un intervalle de temps ΔT très bref est égale à $\Delta T/T$. Pour un intervalle de temps t non négligeable vis à vis de T la probabilité P est donnée par la relation :

$$P = 1 - e^{-\frac{t}{T}}$$

La probabilité ne dépend donc que du temps et est indépendante de l'évènement précédent.

FATT et KATZ (1952) ont montré que la libération spontanée de médiateur, en un point de la terminaison nerveuse, est indépendante de la libération spontanée de médiateur en un point différent de la même terminaison.

La fréquence des ppmm peut être modifiée expérimentalement par :

- les variations du potentiel de membrane de la terminaison nerveuse.

La fréquence des ppmm est augmentée lorsque la terminaison nerveuse est dépolarisée par passage d'un courant de polarité convenable ou par addition de potassium dans la solution de Ringer (DEL CASTILLO et KATZ, 1954c ; KATZ, 1962 ; KATZ et MILEDI, 1967c). L'hyperpolarisation électrotonique ménagée de la terminaison nerveuse peut provoquer au contraire une diminution de la fréquence des ppmm.

- les variations de la pression osmotique.

La fréquence des ppmm est augmentée par l'accroissement de la pression osmotique obtenu par addition de saccharose ou de NaCl à la solution de Ringer (FATT et KATZ, 1952 ; FURSHPAN, 1956).

- les variations de la température.

L'abaissement de la température provoque la diminution de fréquence des ppmm. Le Q_{10} est voisin de 3.

- les modifications de la composition ionique du Ringer.

Chez le Batracien les effets de la variation de la concentration en calcium ou en magnésium sur la fréquence des ppmm sont moins importants que chez le Mammifère où ils ont été mis d'abord en évidence (BOYD et MARTIN, 1956 ; LILEY, 1956 ; HUBBARD, 1961). Toutefois la fréquence des ppmm à la jonction neuro-musculaire de Batracien est augmentée par l'accroissement de la concentration en calcium du Ringer (MAMBRINI et BENOIT, 1964).

2/- Libération du médiateur par l'influx nerveux.

a) Caractère quantique de la libération du médiateur par l'influx nerveux. Détermination du contenu quantique.

Le calcium est un co-facteur indispensable à la libération du médiateur (KUFFLER, 1944 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1954b), tandis que le magnésium en est un inhibiteur (DEL CASTILLO et ENGBAERK, 1954 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1954a). Lorsque la transmission est bloquée par appauvrissement de la solution de Ringer en Ca^{++} , ou addition de Mg^{++} ou encore par une combinaison de ces deux méthodes (DEL CASTILLO et KATZ), on constate que l'amplitude moyenne du ppm est considérablement diminuée. De plus l'amplitude du ppm présente des fluctuations aléatoires autour de cette valeur moyenne. Pour un blocage plus

poussé de la transmission les fluctuations d'amplitude se présentent comme une succession d'échecs (absence de ppm) et de réponses (présence d'un ppm) au cours d'une série de stimulations. Lorsque le pourcentage d'échecs à la transmission est de l'ordre de 60 à 70%, l'amplitude de la majorité des réponses observées est du même ordre de grandeur que celle des ppm observés à la même plaque motrice.

Pour expliquer ces faits DEL CASTILLO et KATZ ont émis les hypothèses suivantes :

-les ppm sont produits par des quanta de médiateur semblables aux quanta responsables des ppm.

-chaque fois que l'influx nerveux arrive à la terminaison, il provoque la libération de quelques quanta de médiateur parmi une grande population disponible

-la probabilité de libération d'un quantum reste faible à tout instant (dans le cas, par exemple, d'un blocage comportant 60 à 70 % d'échecs à la transmission) et ne dépend pas de la libération d'aucun autre quantum de la population.

Si ces hypothèses sont correctes la loi de Poisson permet de calculer au cours d'une série de N stimulations combien d'entre elles libèrent 0,1,2,3, ou x quanta d'acétylcholine.

En fait la loi de Poisson permet d'estimer la probabilité p_x de voir apparaître un ppm constitué de x quanta de médiateur à condition de connaître le contenu quantique moyen m

$$p_x = \frac{m^x}{x!} e^{-m} \quad (1)$$

Au cours d'une série de N stimulations successives le produit $N.p_x$ donne pour chaque valeur de x le nombre de ppm constitués de x quanta

$$Np_x = N \frac{m^x}{x!} e^{-m} \quad (2)$$

Lorsque $x = 0$ la relation (2) donne en particulier le nombre de ppm constitués de 0 quanta c'est à dire le nombre d'échecs à la transmission

$$Np_0 = N e^{-m} \quad (3)$$

Inversement, si on connaît le nombre d'échecs à la transmission il est possible de calculer m et la relation (3) devient

$$m = l_n \frac{N}{Np_0} = l_n \frac{\text{nombre de stimulations}}{\text{nombre d'échecs}} \quad (4)$$

La valeur de m calculée par cette méthode est égale à la valeur de m donnée par le rapport

$$m = \frac{\text{amplitude moyenne du ppm}}{\text{amplitude moyenne des ppm}} \quad (°)$$

Ces résultats ont permis à DEL CASTILLO et KATZ d'établir avec certitude "... que le quantum d'acétylcholine demeure inchangé selon qu'il apparaît spontanément pendant le repos du nerf ou au maximum d'activité de la membrane axonique lorsque l'influx arrive à la terminaison". (d'après KATZ in "Nerve, muscle and synapse", 1966).

(°) Cette relation n'est vraie que pour des amplitudes de ppm égales à un faible pourcentage du potentiel de repos. Ce n'est que dans ce cas en effet que l'amplitude des ppm est une fonction linéaire du nombre de quanta. (FATT et KATZ, 1951 ; voir également l'analyse théorique de ce problème par MARTIN, 1955, 1960).

b) Facteurs ioniques qui conditionnent la quantité de médiateur libéré.

i) Le calcium.

La présence de calcium dans le milieu extérieur est indispensable à la libération de médiateur par l'influx nerveux (FENG, 1936 ; DEL CASTILLO et STARK, 1952 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1954^b; HUTTER et KOSTIAL, 1954 ; KATZ, 1962 ; KATZ et MILEDI, 1965^c, 1967^d). Il est inefficace lorsqu'il est appliqué par ionophorèse à l'intérieur de l'élément présynaptique comme l'ont montré MILEDI et SLATER en 1966 sur la synapse géante de Calmar. Ce n'est pas en modifiant le déroulement temporel du potentiel d'action présynaptique que le calcium agit sur la quantité de médiateur libéré (KATZ et MILEDI 1964, 1965^c). Toutefois le calcium doit être présent à l'instant où la terminaison nerveuse est dépolarisée par le potentiel d'action (KATZ et MILEDI, 1965^c ; KATZ et MILEDI, 1967^d).

La relation existant entre la concentration extérieure en calcium et la quantité de médiateur libéré a été étudiée par JENKINSON (1957).

Plus récemment DODGE et RAHAMIMOFF (1967) ont montré que la relation existant entre la concentration en calcium du milieu extérieur et le contenu quantique du ppm n'est pas linéaire. La courbe en coordonnées logarithmiques exprimant la variation du contenu quantique en fonction de la concentration en calcium du milieu extérieur, est une droite de pente 4 pour les faibles concentrations en calcium ; elle montre que la quantité de médiateur libéré varie comme la puissance 4 de la concentration en calcium. DODGE et RAHAMIMOFF en déduisent que la coopération de 4 ions calcium est nécessaire pour la libération d'un quantum de médiateur.

ii) Le magnésium.

La présence de magnésium inhibe la libération évoquée de médiateur mais n'empêche pas le potentiel d'action nerveux d'envahir la terminaison présynaptique (DEL CASTILLO et ENGBAERK, 1954 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1954a ; HUTTER et KOSTIAL, 1954 ; KATZ et MILEDI, 1964).

Cet ion se comporte comme un antagoniste du calcium en entrant en compétition avec lui pour les mêmes sites présynaptiques. Mais le magnésium est incapable de jouer le même rôle que le calcium dans la libération du médiateur (ENGBAERK, 1952 ; HUTTER et KOSTIAL, 1954 ; JENKINSON, 1957 ; DETTBARN et ROSENBERG, 1966). C'est pourquoi l'addition de magnésium ne modifie pas la relation existant entre la quantité de médiateur libéré et la concentration en calcium (DODGE et RAHAMIM, 1967).

iii) Le sodium.

L'amplitude du potentiel d'action nerveux varie avec la concentration en sodium du milieu extérieur. La concentration de cet ion dans le milieu extérieur devrait donc en principe conditionner la quantité de médiateur libéré et par voie de conséquence l'amplitude de la réponse postsynaptique. La présence de sodium dans le Ringer n'est pas indispensable à la libération du médiateur (FATT et KATZ, 1951 ; BURKS, 1963). KATZ et MILEDI (1967f) ont montré en effet qu'en l'absence totale de sodium dans le milieu extérieur, le potentiel d'action présynaptique est totalement aboli et la libération évoquée de médiateur complètement supprimée. Dans ces conditions cependant il est encore possible de provoquer la libération de médiateur par la dépolarisation expérimentale de la terminaison nerveuse, à condition que du calcium soit présent dans le milieu extérieur. Par contre, on a pu mettre en évidence une action inhibitrice du sodium sur la libération

du médiateur (KELLY, 1965 ; RAHAMIMOFF et COLOMO, 1967 ; BIRKS et COHEN, 1968). En effet la diminution de la concentration en sodium, malgré la diminution d'amplitude du potentiel d'action présynaptique, entraîne une augmentation de la quantité de médiateur libéré par l'influx nerveux. Cette augmentation ne modifie pas la pente de la courbe établie en coordonnées logarithmiques exprimant la relation entre la quantité de médiateur libéré et la concentration en calcium dans le milieu extérieur. Ces résultats s'expliquent si l'on admet une compétition entre les ions sodium et calcium pour les mêmes sites de la membrane présynaptique (RAHAMIMOFF et COLOMO, 1967). Une compétition analogue a été invoquée par LÜTTGAU et NIEDERGERKE (1958) pour expliquer les actions antagonistes de ces ions sur la contractilité cardiaque.

c) Le potentiel d'action présynaptique.

Le primum movens dans la succession des phénomènes aboutissant à la libération évoquée du médiateur est le potentiel d'action présynaptique. On sait maintenant en effet que la terminaison nerveuse de la Grenouille est envahie par un potentiel d'action propagé. Les dimensions de la terminaison nerveuse ne permettant pas d'insérer une microélectrode dans l'élément présynaptique, une microélectrode de faible résistance remplie d'une solution de NaCl 0,5 M est placée à la surface de la terminaison nerveuse. On recueille dans ces conditions une variation de potentiel locale dont le décours temporel variable selon la position de l'électrode sur l'élément nerveux présente les caractères suivants :

-lorsque l'électrode est placée sur la partie moyenne de la terminaison, l'amplitude du potentiel focal recueilli est proportionnelle au courant qui traverse la membrane. Ce courant est

lui-même égal à la dérivée première du courant axial ; il est donc proportionnel à la dérivée seconde par rapport à l'espace du potentiel de membrane. Le tracé présente alors un décours temporel triphasique caractéristique (fig. 7).

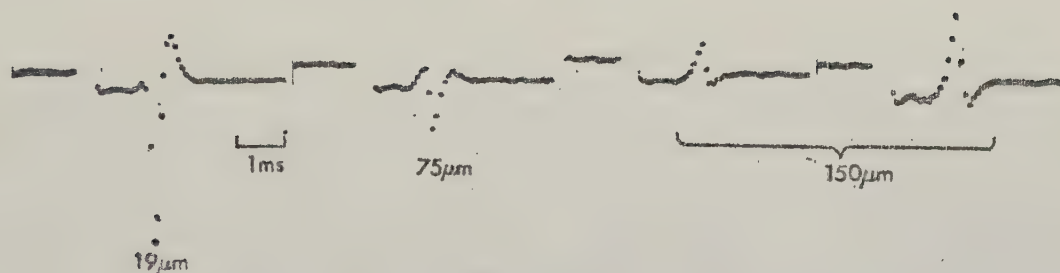
-lorsque l'électrode est placée à l'extrémité de la terminaison, le courant traversant la membrane est égal au courant axial lui-même ; il est donc proportionnel à la dérivée première du potentiel de membrane et le tracé présente un décours temporel diphasique (fig.7) (ECCLES,1964 ; KATZ et MILEDI,1965a).

Pour montrer que les tracés obtenus sont bien dûs à l'invasion de la terminaison nerveuse par un potentiel d'action propagé, KATZ et MILEDI (1965a) ont utilisé comme modèle une fibre musculaire stimulée directement. Ils ont enregistré simultanément à l'aide d'une microélectrode interne le potentiel d'action musculaire et, à l'aide d'une microélectrode placée à la surface de la fibre, la variation locale de potentiel due au potentiel d'action propagé.

-lorsque l'électrode externe est loin de l'extrémité de la fibre, le tracé obtenu est diphasique et correspond à la dérivée première du potentiel d'action musculaire.

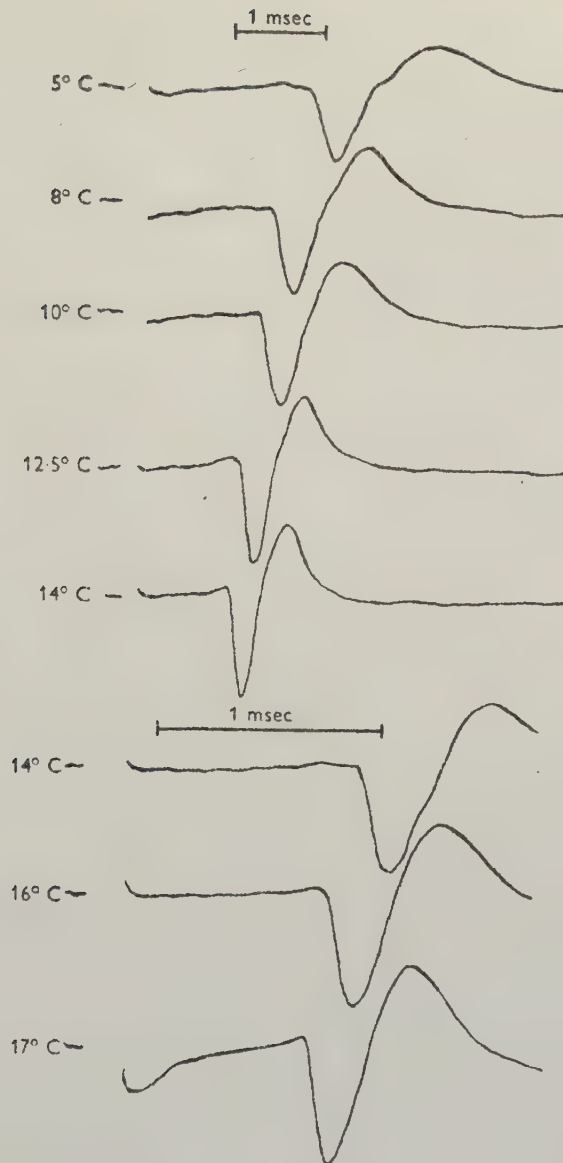
La vitesse de propagation du potentiel d'action dans la terminaison nerveuse a été mesurée en plaçant deux électrodes distantes de 100 microns environ à la surface d'une ramification présynaptique. Cette vitesse est de 0,3 m/s ; elle est affectée par les variations de températures avec un Q_{10} compris entre 1,5 et 2 (KATZ et MILEDI 1965d).

Le décours temporel du potentiel d'action présynaptique par contre est affecté par les variations de température (fig. 8).



- Figure 7 -

Enregistrement par électrode externe de l'activité nerveuse en trois points différents d'une ramification terminale motrice. Les distances en μm indiquent la position de l'électrode (distance comptée à partir de l'extrémité de la myéline). Les tracés de droite ($150 \mu\text{m}$) correspondent à l'extrémité de la partie amyélinique de la ramification. Déflexion négative vers le bas. Extraction des signaux au bruit de fond par moyennage automatique. D'après KATZ et MILEDI, 1965.



- Figure 8 -

Modification du décours temporel de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique par abaissement de la température de 17 à 5°C. Enregistrement par électrode extracellulaire sur une jonction neuro-musculaire de Grenouille. Déflexion négative vers le bas. D'après KATZ et MILEDI, 1965d.

d) Le délai synaptique.

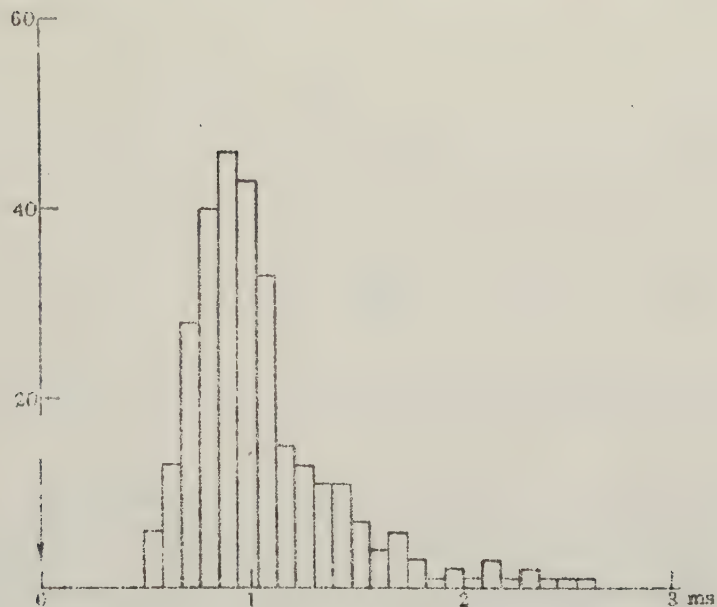
Le délai synaptique a pu être mesuré de façon précise en utilisant la technique d'enregistrement par microélectrode de surface. Cette technique consiste à placer une microélectrode externe en un point de la jonction neuro-musculaire où l'on peut enregistrer à la fois l'activité propagée présynaptique (dérivée seconde du potentiel d'action) et l'activité locale postsynaptique (DUDEL et KUFFLER, 1951 ; DEL CASTILLO et KATZ, 1956a ; KATZ et MILEDI, 1965b). Le délai synaptique est mesuré entre le maximum de l'onde négative de la dérivée seconde du potentiel d'action et le début de la dépolarisation par le médiateur de la membrane postsynaptique.

Le délai synaptique minimum est de 0,4 à 0,5 ms à 20°C.

Lorsque la concentration locale en calcium est telle que l'on ait 60 à 70% d'échecs à la transmission, les potentiels de plaque motrice observés sont en grande majorité monoquantiques. Le délai synaptique mesuré au cours d'une série de plusieurs centaines de stimulations varie entre 0,4 et 2 ms. L'histogramme des valeurs obtenues au cours de cette série de mesure est dissymétrique et présente une valeur modale de 0,75 ms environ. Cet histogramme (fig. 9) traduit le décours temporel de la variation de probabilité de libération d'un quantum d'acétylcholine après un potentiel d'action nerveux (KATZ et MILEDI, 1965b).

Le délai synaptique est sensible aux variations de température (fig. 10) ; son Q_{10} est voisin de 3 (KATZ et MILEDI, 1965d).

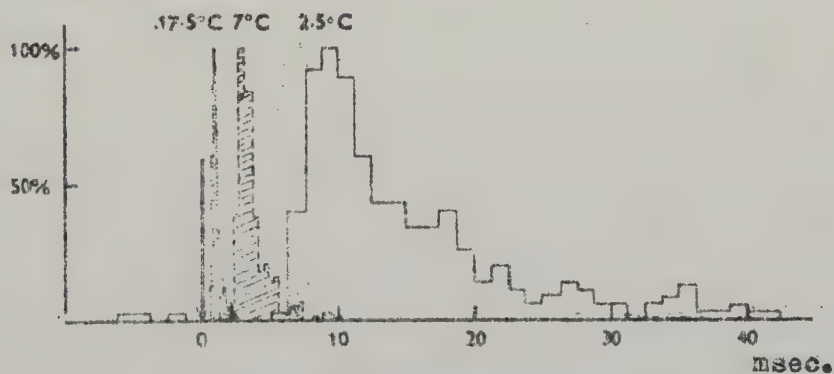
L'existence d'un délai synaptique montre que, contrairement à l'hypothèse de LILEY (1956), la libération du médiateur chez le Batracien n'est pas contemporaine de la dépolarisation.



- Figure 9 -

Histogramme des délais synaptiques mesurés à la jonction neuro-musculaire (technique décrite dans le texte). Le zéro des abscisses correspond au maximum de l'onde négative de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique.

D'après KATZ et MILEDI, 1965b.



- Figure 10 -

Modification des histogrammes de délai synaptique sous l'action de variations de température. Les ordonnées sont exprimées en pourcent de la valeur modale de chaque distribution.

D'après KATZ et MILEDI, 1965d.

tion de la terminaison nerveuse par le potentiel d'action présynaptique. "... le déroulement temporel de la libération du médiateur montre quelque ressemblance avec les changements secondaires dans la membrane axonique (inactivation du transport du sodium et augmentation de la perméabilité au potassium) qui sont associés à la phase de repolarisation du potentiel d'action et à sa période réfractaire." (d'après KATZ et MILEDI, 1965b).

3/- Libération évoquée de médiateur en l'absence d'influx nerveux.

En présence de tétrodotoxine toute activité propagée est supprimée par l'inhibition des mouvements du sodium à travers la membrane dépolarisée. (FURUKAWA, SASAOKA et HOSOYA, 1959 ; NARAHASHI, DEGUCHI, URAKAWA et OHKUBO, 1960 ; NARAHASHI et coll., 1960 ; MOSHER, FURHMAN, BUCHWALD et FISHER, 1964). Par contre la dépolarisation de la membrane postsynaptique par l'acétylcholine subsiste (FURUKAWA et coll., 1959) et la fréquence des ppm n'est pas affectée. Enfin la présence de tétrodotoxine n'empêche pas la fréquence des ppm d'augmenter sous l'action d'un accroissement de la concentration de potassium dans le milieu extérieur (ELMQVIST et FELDMAN, 1965 ; KATZ et MILEDI, 1967b).

KATZ et MILEDI ont utilisé cette substance pour étudier les modalités de la libération du médiateur par des dépolarisations brèves (de 0,5 ms à quelques ms) imposées à la terminaison nerveuse de Batracien en l'absence de potentiel d'action propagé. La libération de médiateur présente alors les caractères suivants :

- le nombre de quanta libérés par la dépolarisation locale de l'élément nerveux est fonction de l'amplitude et de la durée de la dépolarisation imposée et varie dans le même sens que ces deux paramètres,

- la quantité de médiateur libéré par la dépolarisation im-

posée à la terminaison présynaptique dépend de la concentration en calcium du milieu extérieur,

-l'histogramme des "délais synaptiques" mesurés entre le début de la dépolarisation présynaptique et le début de la dépolarisation postsynaptique présente les mêmes caractéristiques que l'histogramme des délais synaptiques décrit précédemment.

-le délai mesuré entre le début de la dépolarisation présynaptique et le début de la dépolarisation postsynaptique augmente avec la durée de la dépolarisation imposée. Cette augmentation n'est cependant pas proportionnelle à la durée de la dépolarisation présynaptique. Pour des durées de dépolarisation suffisamment longues, la libération du médiateur peut commencer avant la fin de la dépolarisation présynaptique imposée.

En fait la préparation neuro-musculaire de Batracien n'est pas le matériel idéal pour étudier les relations existant entre dépolarisation présynaptique et libération de médiateur car il n'est pas possible de placer une microélectrode dans la terminaison présynaptique pour connaître le niveau exact de la dépolarisation imposée à la terminaison.

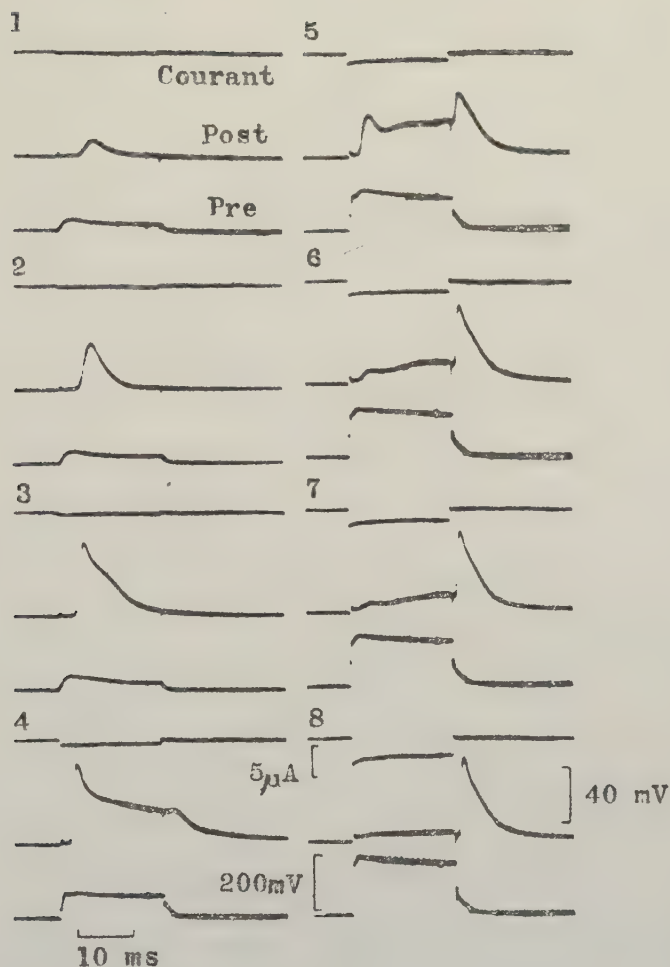
Aussi l'étude de la libération évoquée de médiateur en l'absence d'influx nerveux a-t-elle été poursuivie sur la synapse géante de Calmar. Cette synapse qui a fait l'objet de nombreux travaux (BULLOCK, 1948 ; BULLOCK et HAGIWARA, 1957 ; HAGIWARA et TASAKI, 1958 ; TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1962 ; MILEDI et SLATER, 1966 ; MILEDI, 1966-1967), est une synapse neuro-neuronique située dans le ganglion stellaire. C'est une synapse chimique dont le médiateur n'est pas connu avec certitude. La présence de calcium est indispensable à la libération de ce médiateur par l'élément présynaptique (MILEDI et SLATER, 1966) tandis que le magnésium inhibe cette libération.

En raison des grandes dimensions des cellules, il est

possible de placer deux électrodes dans la terminaison présynaptique. L'une de ces électrodes sert à faire passer un courant permettant de diminuer le potentiel de membrane de la terminaison; l'autre sert à enregistrer les variations de ce potentiel. Une troisième électrode placée dans l'élément postsynaptique permet d'enregistrer l'amplitude des dépolarisations postsynaptiques dues à l'action du médiateur libéré.

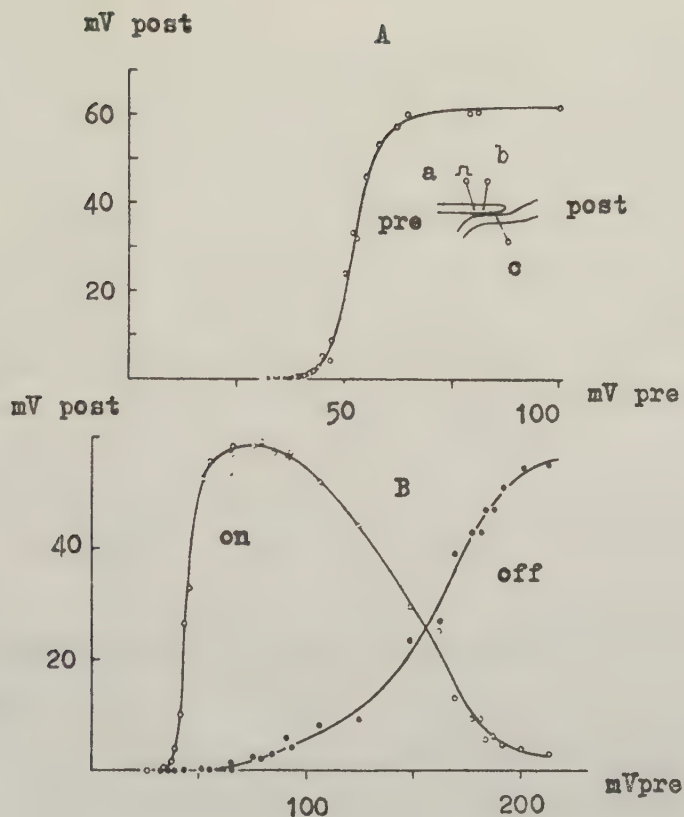
Dans ces conditions expérimentales il est possible d'étudier quantitativement la relation existant entre l'amplitude de la dépolarisation présynaptique imposée et la dépolarisation postsynaptique (fig. 11). Cette "fonction du transfert synaptique" montre que pour des durées de dépolarisation de 1 à 2 ms, la réponse postsynaptique devient décelable à partir de dépolarisations présynaptiques de 30 mV. L'amplitude du potentiel postsynaptique est décuplée pour des accroissements d'environ 12 mV de la dépolarisation présynaptique. La pente de la courbe exprimant la variation de l'amplitude de la dépolarisation postsynaptique en fonction de l'amplitude de la dépolarisation imposée à l'élément présynaptique est augmentée par des concentrations croissantes de calcium dans le milieu extérieur ; elle est diminuée par des concentrations croissantes de magnésium (fig. 12).

La dépolarisation imposée à l'élément présynaptique a pu être portée et maintenue à des niveaux élevés (+ 130 mV par exemple). L'injection ionophorétique d'ions tétraéthylammonium (TEA) dans la cellule permet en effet d'éliminer la rectification retardée qui se développe pendant la dépolarisation imposée à la cellule (HAGIWARA et TASAKI, 1957 ; ARMSTRONG et BINSTOCK, 1965 ; KATZ et MILEDI, 1967e). Dans ces conditions, la libération de médiateur est supprimée pendant toute la durée de la dépolarisation présynaptique (KATZ et MILEDI, 1967e), la dépolarisation de la cellule présynaptique de -70 à +130 mV ayant



- Figure 11 -

Enregistrements réalisés à la synapse du ganglion stellaire de Calmar. Deux électrodes sont placées dans l'élément présynaptique, l'une servant à appliquer des courants d'intensité variables (courant), l'autre permettant d'enregistrer la dépolarisation présynaptique ainsi provoquée (pré). Une troisième microélectrode, insérée dans la cellule postsynaptique permet d'enregistrer le potentiel postsynaptique dû à l'action du médiateur libéré par la dépolarisation présynaptique. La fibre présynaptique a subi préalablement une injection ionophorétique de T.E.A. Les figures 1 à 8 montrent les effets de dépolarisations de durées constantes et d'amplitude croissante. D'après KATZ et MILEDI, 1967e.



- Figure 12 -

Relation entre l'amplitude de la dépolarisation présynaptique imposée et l'amplitude de la réponse postsynaptique ; mesures faites au cours de l'expérience présentée dans la figure précédente.

La courbe A a été obtenue avec des dépolarisations présynaptiques de brève durée. Le schéma en haut à droite représente l'arrangement expérimental: a-électrode servant à faire passer un courant dans l'élément présynaptique, b-enregistrement présynaptique, c-enregistrement postsynaptique.

Les courbes B ont été obtenues avec des dépolarisations présynaptiques de longue durée (18 ms) : la courbe "on" concerne la réponse postsynaptique qui se développe peu après le début des dépolarisations de faible amplitude, la courbe "off" concerne la réponse postsynaptique se développant à la fin des dépolarisations de forte amplitude. D'après KATZ et MILEDI, 1967.

pour résultat d'inhiber le courant entrant de calcium ou d'un composé calcaïque chargé positivement, par l'annulation ou l'inversion du gradient électrochimique qui en est responsable.

Les résultats des expériences de dépolarisation imposée à l'élément présynaptique, réalisées chez le Calmar et chez la Grenouille, permettent de penser que la libération de médiateur est déclenchée par la dépolarisation de l'élément présynaptique. Cette dépolarisation augmenterait la perméabilité de la membrane présynaptique au calcium. L'entrée de calcium constituerait donc une des étapes du processus conduisant à la libération du médiateur. (KATZ et MILEDI, 1967e).

4/- Durée du potentiel d'action présynaptique et libération du médiateur.

Les expériences de KATZ et MILEDI (1967c) montrant les effets de la prolongation d'une dépolarisation imposée à la terminaison présynaptique indique que, dans la mesure où on peut leur comparer la situation résultant d'une augmentation de durée du potentiel d'action nerveux, les conséquences d'un tel allongement seront au moins aussi complexes. En fait, comme nous le verrons au cours de l'exposé de nos résultats expérimentaux, les effets d'un allongement du potentiel d'action présynaptique présentent beaucoup d'analogies avec les résultats de KATZ et MILEDI mentionnés plus haut. L'interprétation en est toutefois moins aisée, car les agents que nous avons utilisés, montrent, en plus d'effets directement liés à l'allongement du potentiel d'action présynaptique, des effets facilitants ou dépresseurs sur la libération de transmetteurs par les terminaisons motrices, sans parler d'effets postsynaptiques éventuels. L'action d'un allongement du potentiel d'action neuro-musculaire chez les Vertébrés n'a été envisagée jusqu'ici que sous l'angle

des modifications du potentiel de plaque motrice sous l'action du tétraéthyl-ammonium (KOKETSU, 1958) et de la sinoménine (TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1959). Ces deux substances étant connues pour allonger le potentiel d'action nerveux recueilli au niveau du noeud de Ranvier (TASAKI, 1959 ; TASAKI et MIZUGUCHI, 1949) ; leur action sur le ppm a été attribué à un allongement du potentiel d'action présynaptique mais en fait aucune preuve expérimentale de l'augmentation du potentiel d'action n'était apportée. Sur la synapse géante du Calmar, en revanche, KUSANO, LIVENGGOOD et WIERMAN (1967) ont montré que l'allongement du potentiel présynaptique, enregistré directement à partir de la terminaison, s'accompagnait d'un accroissement de l'amplitude et de la durée du potentiel postsynaptique excitateur.

T E C H N I Q U E S

I - PREPARATION NEURO-MUSCULAIRE.

Toutes nos expériences ont été faites sur la jonction neuro-musculaire de Grenouille (Rana esculenta et parfois Rana dalmatina). Le muscle utilisé était le couturier (sartorius) en raison de sa structure plate et de la présence d'une couche monocellulaire de fibres sur les bords de la préparation. Le muscle et son nerf étaient prélevés rapidement sur l'animal fraîchement décérébré et dépouillé.

1/- Dissection.

L'animal étant sur le dos, le tendon distal est désinséré de son insertion tibiale et le muscle séparé de la masse musculaire de la cuisse jusqu'au niveau de l'entrée du nerf dans le muscle. Les muscles de la face interne de la cuisse sont écartés pour dégager le nerf jusqu'à l'articulation coxale. L'animal est alors retourné sur sa face ventrale et le nerf sciatique disséqué depuis le plexus lombo-sacré jusqu'à l'articulation de la hanche. Toutes les ramifications n'innervant pas le couturier sont alors sectionnées et le nerf est progressivement dégagé des tissus avoisinants. L'animal est retourné une dernière fois sur la face dorsale ; le nerf est disposé soigneusement sur la face externe du muscle et celui-ci est séparé du reste de la cuisse jusqu'à la symphyse pubienne. A cet endroit, l'aponévrose fixant le muscle sur le pubis est sectionnée en suivant la crête osseuse.

La préparation est alors transférée dans une cuve à fond clair, remplie de solution de Ringer, pour être débarassée du tissu conjonctif qui recouvre sa face interne. La face externe du muscle adhère à un tissu conjonctif résistant qui enveloppe

pe toute la cuisse. Dans ce tissu sont découpées des lanières servant à étaler le muscle sur son support.

2/- Installation de la préparation.

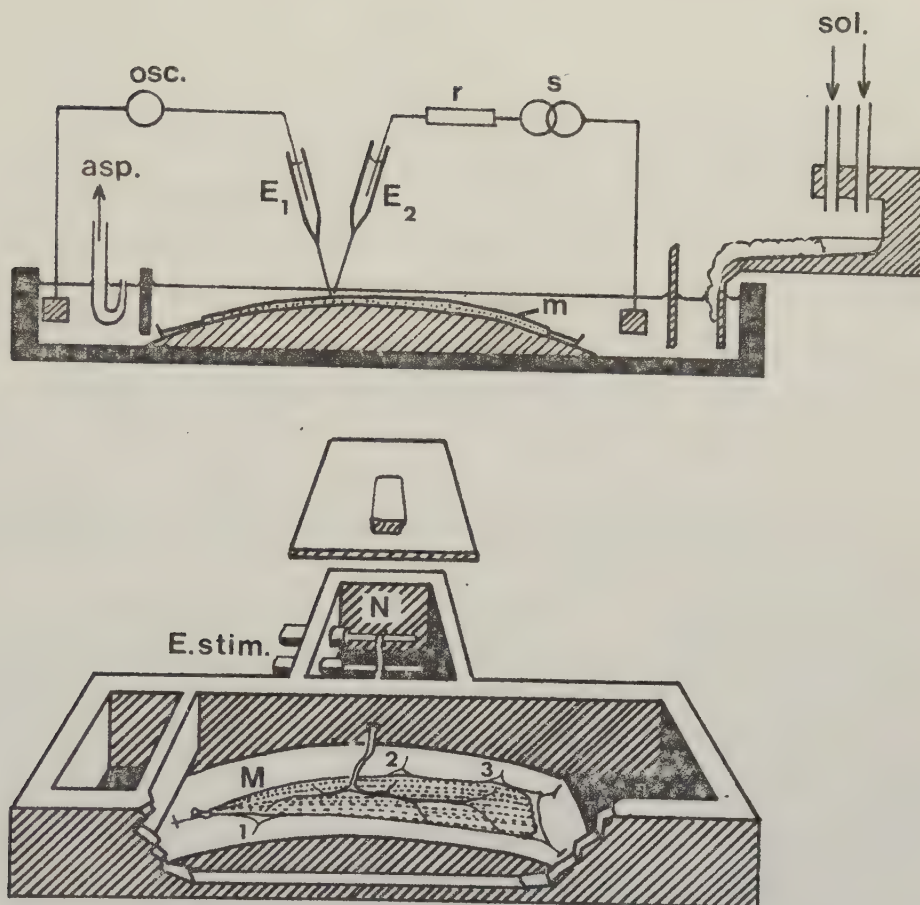
Le muscle est placé, face interne vers le haut, sur une pièce de plexiglas rectangulaire dont la partie supérieure est taillée en forme de calotte sphérique. Il est fixé sur ce support par le tendon tibial, l'aponévrose pelvienne et les lanières de tissu conjonctif latérales.

La cuve expérimentale comprend deux compartiments (figure 13). Le muscle et son support sont placés dans le premier compartiment (M) où la préparation baigne dans 15 ml environ de solution de Ringer. Le deuxième compartiment, d'une capacité de 4 ml environ, contient deux électrodes d'argent sur lesquelles repose le nerf et permettant de le stimuler. Le deuxième compartiment (N), fermé par un couvercle, joue le rôle de chambre humide pour le nerf et empêche ainsi sa dessiccation. La cloison séparant les deux compartiments est percée d'un orifice permettant le passage du nerf.

Les solutions sont renouvelées en permanence dans le compartiment musculaire, la vitesse de circulation étant au moins égale à 10 ml/mn. Pour éviter toute perturbation mécanique due à la circulation du liquide et afin d'assurer une bonne diffusion des solutions, celles-ci sont conduites dans la cuve à l'aide d'une gouttière débouchant près du fond (sol). Les solutions sont ensuite évacuées par aspiration (asp.).

II - SOLUTION DE RINGER.

Nous avons utilisé une solution de Ringer ayant la composition suivante :



- Figure 13 -

En haut: schéma du dispositif d'enregistrement des activités synaptiques neuro-musculaires. E_1 : électrode d'enregistrement intra- ou extracellulaire. OSC. : oscilloscope, E_2 : électrode d'application ionophorétique, r : résistance (50 mégohms). s : source de courant. Sol : arrivée des solutions. Asp. : évacuation des solutions par aspiration. m : muscle.

En bas: schéma de la cuve d'expérience. M : compartiment musculaire. N : compartiment nerveux. E.stim. : électrodes de stimulation du nerf.

1, 2 et 3 : lanières taillées dans le tissu conjonctif et servant à tendre le muscle.

NaCl	112 mM	
CaCl ₂	2 mM	
KCl	2 mM	
CO ₃ HNa	2,4 mM	
H ₂ O	bi-distillée q.s.p.f.	1000 ml.

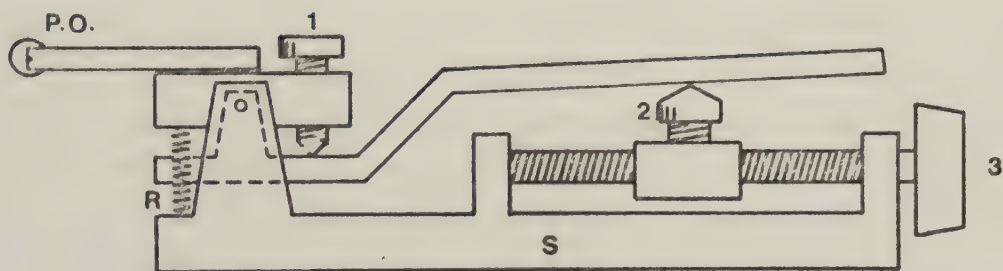
La composition de cette solution de Ringer a été modifiée selon les besoins expérimentaux. Dans la suite de notre exposé, nous appelons Ringer de référence, le Ringer utilisé au début de l'expérience, avant l'addition de l'ion dont on veut étudier l'action. Les ions uranyle, tétraéthyl-ammonium, nickel et zinc ont été ajoutés au Ringer sous forme de chlorures.

III - PLACEMENT DE MICROELECTRODES SUR LA PREPARATION.

Les microélectrodes sont placées sur la préparation à l'aide de micromanipulateurs mis au point au laboratoire. Une loupe binoculaire B B T (grossissement variable de 6 à 80, distance frontale 9cm) permet de contrôler leur position.

Chaque micromanipulateur est constitué d'un socle de fer doux rectifié à sa face inférieure. Un porte-outil basculant autour d'un axe horizontal est placé sur ce socle. Le mouvement de bascule autour de l'axe est réalisé à l'aide de 3 vis. Le porte-outil peut être déplacé grâce à la vis 1 (figure 14) qui permet un mouvement rapide autour de l'axe tandis que les vis 2 et 3 assurent un mouvement lent. La pointe de la microélectrode fixée à l'extrémité du porte-outil décrit de la sorte un arc de cercle dans un plan vertical. La microélectrode est fixée sur le porte-outil grâce à une pince orientable isolée électriquement.

Les micromanipulateurs sont posés sur une plateforme en alliage non magnétique, dont la surface est rectifiée



- Figure 14 -

Schéma du micromanipulateur. S : socle. P.O. : porte-outil.
1,2 et 3 : commandes du mouvement du porte-outil dans le plan
vertical.

et enduite d'une graisse consistante, ce qui facilite le glissement. L'adhérence des micromanipulateurs à la plateforme est augmentée par attraction magnétique. A cet effet des boulons en acier traversent la plateforme de part en part et affleurent à la face supérieure et à la face inférieure de cette plateforme. Des aimants unissent ces boulons deux à deux à la face inférieure de la plateforme et les socles des micromanipulateurs ferment le circuit magnétique à la face supérieure. Les micromanipulateurs sont disposés autour de la cuve expérimentale reposant elle aussi sur la plateforme.

L'éclairage de la préparation se fait par transparence à travers un orifice ménagé dans la plateforme à cet effet.

IV - MICROELECTRODES.

1/- Electrodes pour enregistrement intracellulaire et application ionophorétique.

Nous avons utilisé des microélectrodes dont le diamètre à l'extrémité est inférieur au micron. Ces microélectrodes sont étirées à partir de tube de verre pyrex (Sovirel) de 3 mm de diamètre extérieur, à l'aide d'une machine construite au laboratoire (MAMBRINI, 1964). Elles sont remplies d'une solution de KCl (3 M) par ébullition sous vide. Leur résistance électrique est fonction du diamètre de l'orifice à la pointe et varie entre 5 et 30 mégohms.

Pour les enregistrements intracellulaires nous avons utilisé des électrodes dont la résistance était comprise entre 5 et 10 mégohms.

Pour les applications ionophorétiques nous avons sélectionné les électrodes dont la résistance était comprise entre 15 et 20 mégohms. Ces électrodes sont vidées de la solu-

tion de KCl 3M, rincées à l'eau bi-distillée pendant 24 heures, puis remplies de la solution définitive (CaCl_2 0,5 M ou chlorure d'acétylcholine 3M).

2/- Electrodes pour enregistrement extracellulaire.

Nous avons utilisé des microélectrodes dont le diamètre à la pointe est de quelques microns. Ces électrodes sont étirées à la microforge de Fonbrune à partir du même tube de verre que les microélectrodes précédentes. Elles sont remplies d'une solution de NaCl 0,5M par ébullition sous vide. La résistance de ces électrodes est relativement faible (inférieure au mégohm).

V - ELECTRODE DE REFERENCE.

Elle est constituée par un fil d'argent chloruré plongeant dans un récipient rempli d'une solution de KCl 3M, immobilisée par de la gélose et en relation avec la solution qui baigne la préparation.

VI - STIMULATEUR.

Le nerf sciatique est stimulé à fréquence constante (1 à 3 cycles par seconde) lorsque cela est nécessaire, par des courants rectangulaires durant environ 0,1 ms, à l'aide d'un stimulateur électronique (ST II C, Equipements Industriels) muni d'une unité d'isolement H.F.

Ce stimulateur est utilisé aussi dans le cas des applications ionophorétiques, pour régler la durée de fonctionnement de relais électromagnétiques commandant eux-mêmes le courant d'ionophorèse.

VII - OSCILLOSCOPE.

Les signaux recueillis par la microélectrode sont visualisés sur un oscilloscope Tektronix 502 A à deux voies, après amplification (amplificateurs différentiels à liaison directe ou par capacité de l'oscilloscope, sensibilité maximum de la chaîne 100 microvolts/cm).

La microélectrode ayant une résistance élevée, elle doit être reliée à l'entrée de l'amplificateur de l'oscilloscope au moyen d'un étage abaisseur d'impédance. Le changeur d'impédance, construit au laboratoire (CHEVAL, 1966), utilise un transistor à effet de champ. Il est caractérisé par un courant d'entrée faible ($6 \cdot 10^{-12}$) et par une très bonne stabilité dans le temps.

La connection microélectrode-circuit d'enregistrement est assurée par un fil d'argent recouvert de chlorure d'argent par électrolyse, placé dans la solution de KCl de l'électrode.

VIII - SOURCE DE TENSION CALIBREE.

Une source de tension est utilisée pour compenser sur l'oscilloscope le potentiel de repos de la cellule. Cette source de tension, calibrée de 0 à 110 mV par paliers de 1 et 10 mV permet de connaître en permanence le potentiel de repos de la cellule.

IX - MOYENNEUR AUTOMATIQUE.

Cet appareil est utilisé pour analyser des signaux noyés dans un bruit de fond aléatoire.

L'amplitude du potentiel d'action présynaptique recueilli par microélectrode externe est voisine de celle du bruit de fond dû à la résistance élevée de la microélectrode. L'analyse du décours temporel de ce signal exige donc que celui-ci soit préalablement extrait du bruit de fond par un traitement approprié. Ce traitement est réalisé à l'aide d'un ensemble Intertechnique comprenant un bloc d'échantillonnage HC 26 et un bloc d'exploitation numérique BM 25.

Principe de fonctionnement.

L'amplitude du signal convenablement amplifié est mesurée à intervalles de temps réguliers pendant quelques microsecondes.

La cadence d'échantillonnage est réglable entre 1 et 50 000 échantillons par seconde (la cadence utilisée généralement a été de 25 000 échantillonnages par seconde soit un intervalle de temps de 40 microseconde entre deux échantillonnages successifs). Chaque valeur obtenue est classée dans l'un des canaux d'une mémoire à tores magnétiques. Cette analyse est répétée pendant N stimulations successives au cours desquelles les échantillons de même abscisse par rapport à l'origine des temps T_0 sont classés dans le même canal de la mémoire et additionnés. A la fin de l'opération, le contenu de chaque canal de la mémoire représente donc la somme des amplitudes des échantillons de même rang par rapport à T_0 . Le contenu de chaque canal peut être visualisé par la position d'un point sur l'écran cathodique de l'appareil. L'intervalle de temps entre deux points de l'oscillogramme représente le temps écoulé entre deux échantillonnages successifs.

Le résultat d'un tel traitement de N stimulations est de multiplier par N l'amplitude des signaux définis dans le

temps par rapport à T_0 (réponse biologique à une stimulation définie dans le temps par rapport à T_0) et de multiplier par $\sqrt{N}$ seulement l'amplitude des signaux aléatoires composant le bruit de fond. Dans ces conditions l'amélioration du rapport signal/bruit de fond croît comme $\sqrt{N}$.

La précision du tracé obtenu est fonction du nombre de signaux traités et de la qualité de leur définition temporelle par rapport à T_0 . Il est évident que, compte tenu des basses fréquences de stimulation utilisées dans nos expériences, l'opération d'extraction du bruit de fond demande un certain laps de temps ce qui ne permet pas d'enregistrer avec fidélité les étapes intermédiaires entre deux types de décours temporels stables.

L'amplification préalable des signaux a été réalisée à l'aide d'un préamplificateur à liaison par capacité dont la constante de temps est de 0,1 seconde (CHEVAL, 1966).

X - TECHNIQUE D'ENREGISTREMENT.

1/- Dérivation des potentiels à l'aide d'une microélectrode intracellulaire.

Les potentiels de plaque motrice (ppm) sont enregistrés à l'aide de microélectrodes dont la résistance à la pointe est comprise entre 5 et 10 mégohms. Au début de l'expérience, la microélectrode est approchée d'une fibre musculaire au niveau de la plaque motrice. La position de la microélectrode est contrôlée à l'aide de la loupe binoculaire. La pointe de la microélectrode est amenée au contact de la membrane cellulaire au moyen du mouvement lent du micromanipulateur. La microélectrode est alors piquée dans la cellule et la pénétration indiquée par une déflexion de la ligne de base sur l'écran de l'oscilloscope. Cette déflexion voisine de 90 mV est due au potentiel de

repos de la membrane musculaire. La trace de l'oscilloscope est ramenée à sa position initiale par application à l'entrée symétrique de l'amplificateur d'une tension calibrée de signe convenable. La source de tension calibrée permet de compenser les variations du potentiel de repos de la cellule pendant toute la durée de l'expérience.

La base de temps de l'oscilloscope fonctionne soit en régime apériodique, elle est alors déclenchée par l'impulsion de synchronisation fournie par le stimulateur, soit en régime périodique dans le cas de phénomènes aléatoires comme les potentiels miniatures.

2/- Dérivation de potentiels par microélectrode extracellulaire.

Les variations locales de potentiel à la surface de la membrane cellulaire sont enregistrées à l'aide de microélectrodes extracellulaires dont la résistance à la pointe est inférieure au mégohm.

DEL CASTILLO et KATZ (1956a) ont montré que l'on peut recueillir à l'aide de ces microélectrodes, en certains points privilégiés de la jonction neuro-musculaire, des potentiels de plaque motrice "externes". Cette technique, extrêmement sélective, ne permet de recueillir que les ppm produisant à moins de 50 μ m de la pointe de la microélectrode. L'activité synaptique ainsi détectée ne représente que 1 à 10% de l'activité totale de la jonction neuro-musculaire. Le signe des ppm externes est inverse de celui des ppm recueillis par microélectrode intracellulaire.

Par approximations successives l'électrode extracellulaire peut être placée au voisinage immédiat de la terminaison nerveuse, de façon à recueillir en plus du "ppm" externe, l'ac-

tivité présynaptique sous forme d'une tension proportionnelle à la dérivée seconde du potentiel d'action nerveux.

XI - ENREGISTREMENT PHOTOGRAPHIQUE, MESURES, PRESENTATION DES RESULTATS.

Les variations de potentiel visualisées sur l'écran de l'oscilloscope sont filmées à l'aide d'une caméra à déroulement continu (Grass) et, éventuellement, pour certains clichés, avec une caméra Shackman sur film polaroid.

Les amplitudes et les durées des potentiels enregistrés sont mesurées à l'aide d'un agrandisseur photographique.

L'amplitude et la durée des variations de potentiel enregistrées en présence des ions étudiés ont été comparées, dans toute la mesure du possible, aux amplitudes et durées mesurées en présence du Ringer de référence avant et après l'action de l'ion étudié. Pour l'expression des résultats, on a adopté la convention de signe suivante : les variations de potentiel correspondent à la différence de potentiel de l'extrémité de la microélectrode, que celle-ci soit en position intra- ou extra-cellulaire, par rapport à l'électrode de référence. En conséquence, dans les tracés, les ordonnées positives par rapport à la ligne de base correspondent à une augmentation du potentiel de la pointe de la microélectrode d'enregistrement.

La dispersion des mesures est indiquée dans le texte, les tableaux et les graphiques, par l'erreur standard de la moyenne.

R E S U L T A T S E X P E R I M E N T A U X

Nous avons étudié les effets sur la transmission neuro-musculaire, et plus spécialement sur la libération du médiateur, de quatre agents allongeant le potentiel d'action présynaptique, les ions nickel, zinc, uranyle et tétraéthyl-ammonium.

Nous présentons nos résultats expérimentaux selon le plan général suivant :

I - Mise en évidence de l'augmentation de durée du potentiel d'action présynaptique au niveau de la terminaison.

II - Modifications du décours temporel de la libération du médiateur.

III - Effets sur la quantité de médiateur libéré.

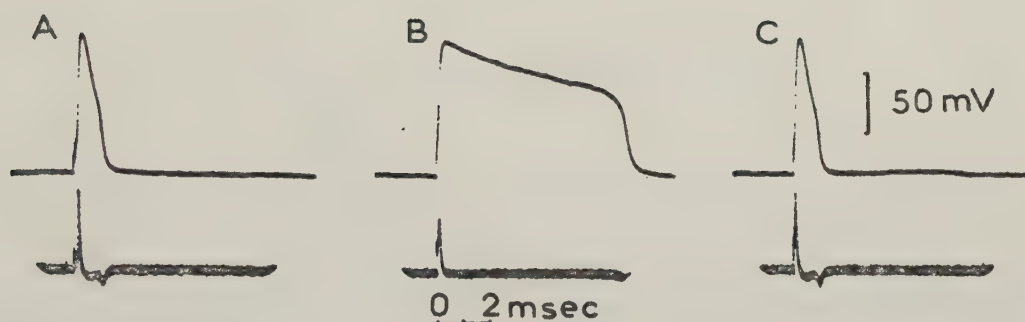
IV - Effets postsynaptiques.

CHAPITRE I

MODIFICATION DE LA DUREE DU POTENTIEL D'ACTION PRESYNAPTIQUE .

Dans ce chapitre nous avons étudié les modifications de durée du potentiel d'action présynaptique sous l'action de certains ions. Dans ce but nous avons utilisé des ions connus pour augmenter la durée du potentiel d'action au noeud de Ranvier, c'est à dire le nickel et le zinc (SPYROPOULOS et BRADY, 1959 ; TAKAHASHI, MURAI et SASAKI, 1960 ; TAKAHASHI, USUDA et EHARA, 1962), le tétraéthyl-ammonium (SCHMIDT et STÄMPFLI, 1964) et l'uranyle (BERGMAN, communication personnelle). En présence de ces ions, la durée de la phase de repolarisation du potentiel d'action au noeud de Ranvier est allongée. Cet allongement est caractérisé par la formation d'un "plateau" pendant lequel la membrane est maintenue à un niveau de dépolarisation élevé lentement décroissant. Le plateau se termine par une phase rapide de repolarisation (figures 15, 16 et 17). L'augmentation de la durée du potentiel d'action au noeud de Ranvier est la conséquence de modifications des perméabilités ioniques de la membrane nerveuse (MEVES, 1963 ; SCHMIDT, 1965 ; SCHMIDT et STÄMPFLI, 1966).

Nous avons montré au cours de l'historique que la modification de la durée du potentiel d'action présynaptique ne peut être étudiée à la jonction neuro-musculaire du Batracien que par l'intermédiaire des variations du décours temporel de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique. En effet les dimensions de la terminaison nerveuse ne permettent pas l'insertion d'une microélectrode intracellulaire dans l'élément présynaptique.

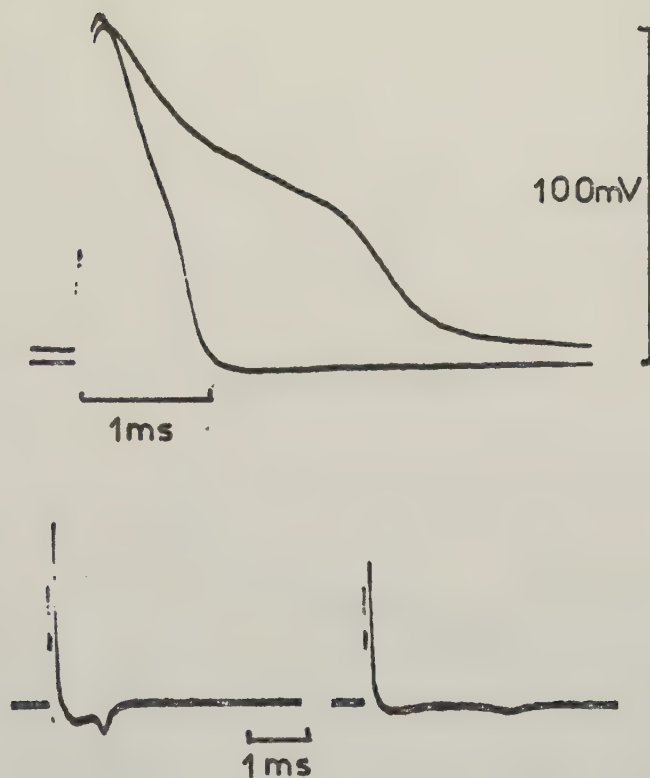


- Figure 15 -

Action de l'uranylo sur la durée du potentiel d'action d'une fibre nerveuse motrice isolée recueilli au noeud de Ranvier.

Trace supérieure : potentiel d'action.

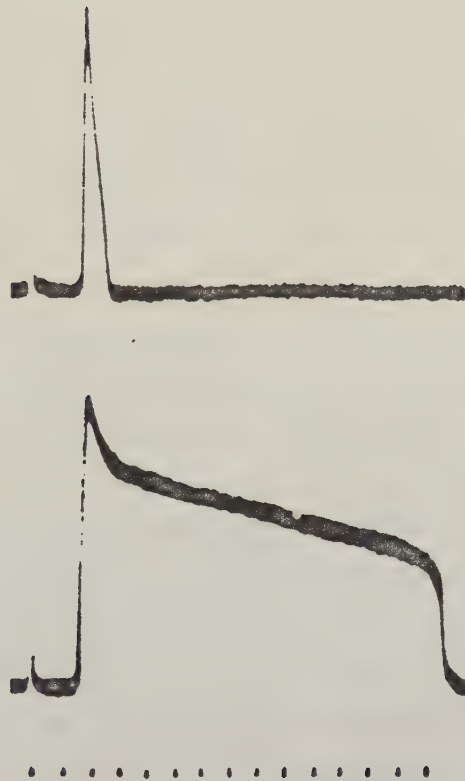
Trace inférieure : dérivée par rapport au temps du potentiel d'action. A : Ringer ; B : Ringer + UO_2 (0,2 mM) ; C : retour au Ringer. Température 20°C.



- Figure 16 -

Potentiel d'action enregistré au noeud de Ranvier d'une fibre motrice isolée en présence de Ringer normal et en présence de Ringer + TEA (tracés supérieurs).

Dérivée par rapport au temps du potentiel d'action en présence de Ringer normal (en bas, à gauche) et en présence de Ringer + TEA (en bas, à droite). D'après SCHMIDT et STAMPFLI, 1966).



- Figure 17 -

Modification par le nickel de la durée du potentiel d'action recueilli au noeud de Ranvier d'une fibre nerveuse isolée.

Tracé supérieur : Ringer normal ; Tracé inférieur : Ringer + nickel (0,5 mM). Température : 23°C.

L'échelle des temps représente des intervalles de 1 ms.

D'après SPYROPOULOS et BRADY (1959).

PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

La préparation est placée dans une solution de Ringer dépourvue de calcium et contenant 2 mM de magnésium. Le nerf est stimulé à une fréquence de 1 à 3 cycles par seconde.

Dans ces conditions le blocage de la transmission est obtenu très rapidement pour les fibres musculaires superficielles, et après 10 minutes environ pour les fibres les plus profondes.

Une microélectrode d'enregistrement extracellulaire est placée à proximité d'une plaque motrice. Afin de rétablir provisoirement la libération de médiateur par le potentiel d'action présynaptique en un point de la terminaison nerveuse, une pipette remplie de CaCl_2 est approchée de la plaque motrice. Cette pipette est parcourue par un courant de faible intensité et de sens convenable qui permet l'application ionophorétique de petites doses de calcium. Dans ces conditions, le potentiel d'action présynaptique provoque la libération de quelques quanta de médiateur et un potentiel de plaque motrice externe est enregistré par l'électrode extracellulaire. L'électrode est déplacée jusqu'à ce que l'amplitude du potentiel de plaque motrice externe recueilli soit maximum. A cet endroit la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique est généralement décelable. L'électrode d'enregistrement est alors placée, par approximations successives, au point où le tracé de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique observé sur l'écran cathodique est optimum. L'application ionophorétique de calcium est alors arrêtée et de ce fait la libération évoquée de médiateur supprimée.

La dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique présente un décours temporel triphasique (figure 7, page 39) positif-négatif-positif caractéristique (KATZ et MILEDI, 1965a).

Conformément à la convention adoptée (cf. page 61), le signe est celui du potentiel de la microélectrode.

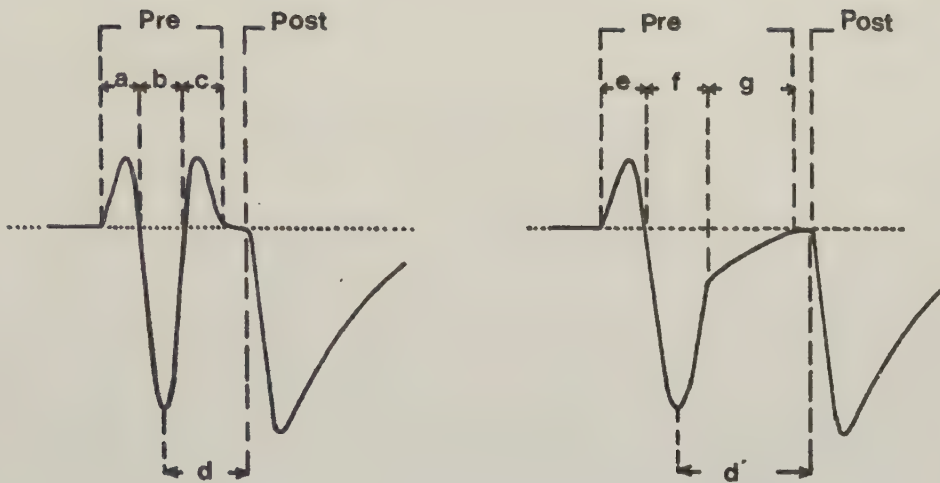
Nous avons parfois recueilli la dérivée première du potentiel d'action présynaptique. Un tel tracé est obtenu lorsque l'électrode se trouve placée à l'extrémité de la terminaison nerveuse (voir historique). La position de l'électrode est alors extrêmement critique et ne se prête pas à une expérimentation de longue durée. C'est pourquoi nous avons choisi d'étudier les variations de durée de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique.

Le signal est moyenné automatiquement au cours d'une série de stimulations successives (cent au minimum, et en général plusieurs centaines). Lorsque les tracés obtenus au cours de plusieurs moyennages successifs ne présentent pas de modifications du décours temporel ni de l'amplitude de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique, l'expérience est commencée.

Un enregistrement de référence est gardé dans la mémoire du moyenneur et la solution de Ringer contenant l'ion étudié est progressivement substituée à la solution de Ringer de référence. Les effets de la nouvelle solution sont observés au cours de moyennages successifs. Ils sont généralement stables au bout de 5 minutes environ. Les enregistrements ont été réalisés après 10, 15 et parfois 20 minutes d'action de l'ion étudié.

Le retour aux conditions initiales est réalisé en substituant la solution de Ringer de référence à la solution de Ringer contenant l'ion étudié. Pendant toute la durée de l'expérience, la géométrie des conditions de dérivation du signal ne doit pas être modifiée.

Les durées des différentes phases de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique ont été mesurées en



- Figure 18 -

Schémas d'enregistrements obtenus à l'aide d'une micro-électrode placée à la surface d'une plaque motrice (muscle de Grenouille). Transmission partiellement bloquée par défaut de calcium et excès de magnésium.

Pre : réponse présynaptique (dérivée seconde du potentiel d'action.

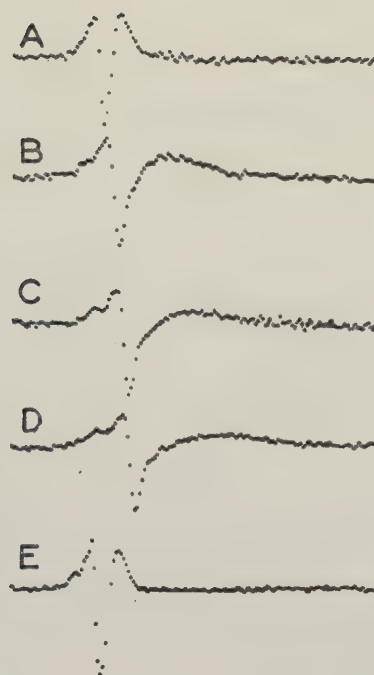
Post : réponse postsynaptique (courant de plaque motrice).

a, b, c, e, f et g : ondes dont les durées figurent dans les tableaux.

d et d' : délais synaptiques.

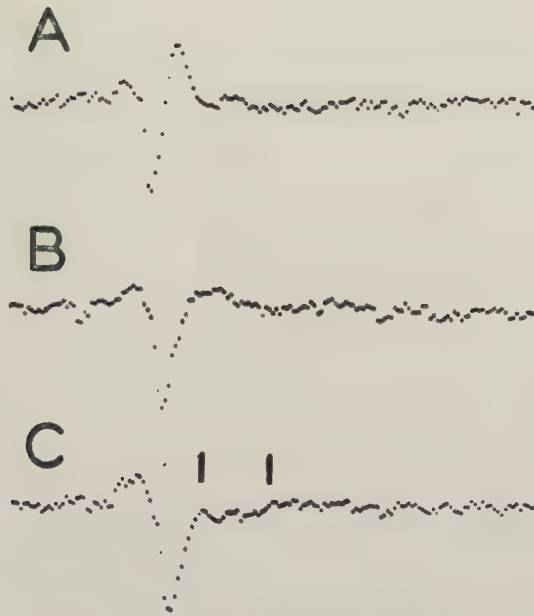
A gauche : enregistrement obtenu en présence de Ringer.

A droite : enregistrement obtenu en présence de Ringer contenant de l'uranyle. Les variations positives sont dirigées vers le haut.



- Figure 19 -

Modification du décours temporel de l'activité propagée pré-synaptique. Enregistrement à l'aide d'une microélectrode extracellulaire. La transmission synaptique était interrompue par substitution de magnésium (2mM) au calcium du Ringer. Chaque tracé résulte du moyennage de 500 traces successives (40 microsecondes entre deux points successifs). A : Ringer ; B, C et D : Ringer + UO_2 , 5 minutes, 15 minutes et 20 minutes après le début du remplacement du Ringer de référence par la solution contenant l'uranyle. E : retour aux conditions initiales. Dans cette expérience la deuxième onde positive n'a pas complètement disparu ; par contre on peut suivre dans ce cas le développement de la phase lente de l'onde négative (colonne g du tableau I). Dans cette expérience, on observe, sous l'action de l'uranyle, un léger allongement du temps de conduction. Ce phénomène ne se produit pas toujours (cf. figure 20), mais n'est toutefois pas exceptionnel.



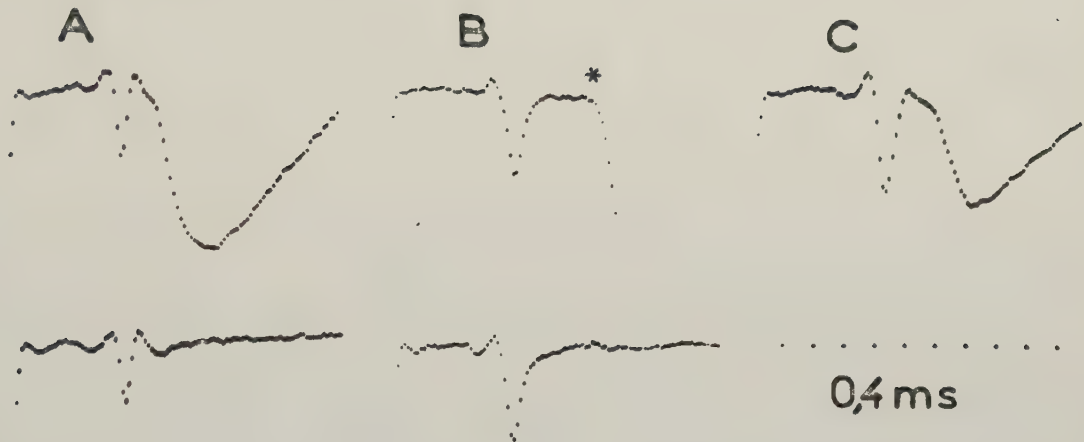
- Figure 20 -

Modification du décours temporel de l'activité propagée pré-synaptique. Enregistrement à l'aide d'une microélectrode extracellulaire. La transmission synaptique était interrompue par substitution de magnésium (2mM) au calcium du Ringer. Chaque trace résulte du moyennage de 500 réponses successives. 40 microsecondes entre deux points successifs. Les traits marquent les limites de la phase lente de l'onde négative (colonne g des tableaux de mesures).

A : enregistrement en présence de Ringer de référence.

B : enregistrement en présence de Ringer + uranylo (0,2mM),
5 minutes.

C : même solution : 10 minutes.



- Figure 21 -

Modification du déroulement temporel des activités pré- et postsynaptiques en présence d'uranyle (0,2mM). Transmission interrompue par substitution de magnésium (2mM) au calcium du Ringer. Enregistrement par microélectrode extracellulaire. Moyennage automatique des réponses à 100 stimulations successives dans chaque cas. En haut : la libération de médiateur était localement rétablie par application ionophorétique de calcium. En bas : suppression de l'application du calcium, par diminution du courant d'application. A et C : Ringer ; B : Ringer + UO_2 (0,2mM).

TABLEAU I .

MODIFICATION DU DECOURS TEMPOREL DE LA DERIVÉE SECONDE DU
POTENTIEL D'ACTION PRESYNAPTICQUE PAR L'URANYLE (0,2 mM) .

Les lettres a, b, c, e, f, g, désignent les différentes ondes
prises en considération (figure 18). Durées en microsecondes.

	Ringer			Ringer + UO ₂ (0,2 mM)		
	a	b	c	e	f	g
	360	280	280	640	440	1400
	320	280	280	600	400	1480
	320	320	360	440	520	880
	330	180	300	510	210	780
	330	180	330	570	240	1020
	240	200	240	280	320	760
	280	200	160	240	320	320
	280	320	280	280	520	560
	280	320	320	320	240	480
	360	280	280	320	440	400
	360	280	360	480	560	1060
	320	320	280	760	440	1040
	240	440	360	240	760	1160
Moyenne :	309	277	294	436	416	872
Erreur standard $\pm$	11	20	15	47	42	100

présence du Ringer de référence et en présence de l'ion étudié. Les phases que nous avons prises en considération sont schématisées sur la figure 18. Leurs limites sont définies par les intersections du tracé de la dérivée seconde du potentiel présynaptique avec la ligne de base. Leurs durées sont exprimées en microsecondes (μs) .

RESULTATS.

1° - Action de l'uranyle.

L'action de l'ion uranyle sur le décours temporel de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique a été étudié au cours de 13 expériences. La concentration d'uranyle utilisée était de 0,2 mM. Cette concentration permet d'obtenir des effets importants et aisément réversibles sur la terminaison nerveuse.

La figure 19 montre les variations progressives obtenues sous l'action de l'ion uranyle. On constate qu'elles concernent essentiellement la fin de l'onde négative et la deuxième onde positive du tracé. En effet la fin de l'onde négative est prolongée de façon importante par l'apparition d'une phase lente tandis que la deuxième onde positive n'est généralement plus décelable (figures 20 et 21).

Le tableau I donne les durées des différentes phases de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique en présence du Ringer de référence et en présence d'uranyle. Ce tableau montre que :

- la durée de la première onde positive est de :
 $309 \pm 11,6 \mu s$ (e.s. ; 13 expériences) en présence de Ringer de référence et de $436 \pm 47,5 \mu s$ en présence d'uranyle. L'accroissement de durée de la première onde positive est donc de 41%

en moyenne.

- la durée de l'onde négative est de $277 \pm 20,3 \mu\text{s}$ en présence de Ringer de référence, et de $1288 \mu\text{s}$ en présence d'uranyle. L'accroissement moyen de durée de l'onde négative est de 365%. La phase lente (g) de l'onde négative dure $416 \pm 42 \mu\text{s}$.

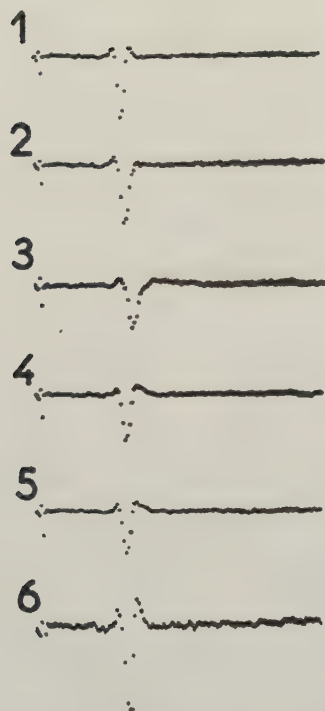
- la deuxième onde positive dure $294 \pm 15,4 \mu\text{s}$ en présence de Ringer de référence. Elle n'est généralement plus décelable en présence d'uranyle.

La durée totale de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique (colonnes a + b + c du tableau I) qui est de $880 \mu\text{s}$ en présence de Ringer de référence ne peut donc être évaluée en présence d'uranyle. C'est pourquoi nous avons établi une comparaison entre la durée totale des deux premières ondes en présence de Ringer de référence d'une part et en présence d'uranyle d'autre part.

La durée totale des deux premières ondes est de $586 \mu\text{s}$ en présence de Ringer de référence (colonnes a + b du tableau I) et de $1724 \mu\text{s}$ en présence d'uranyle (colonnes e + f + g du tableau I). L'accroissement de la durée totale des deux premières ondes est de 200% environ.

2° - Action du nickel.

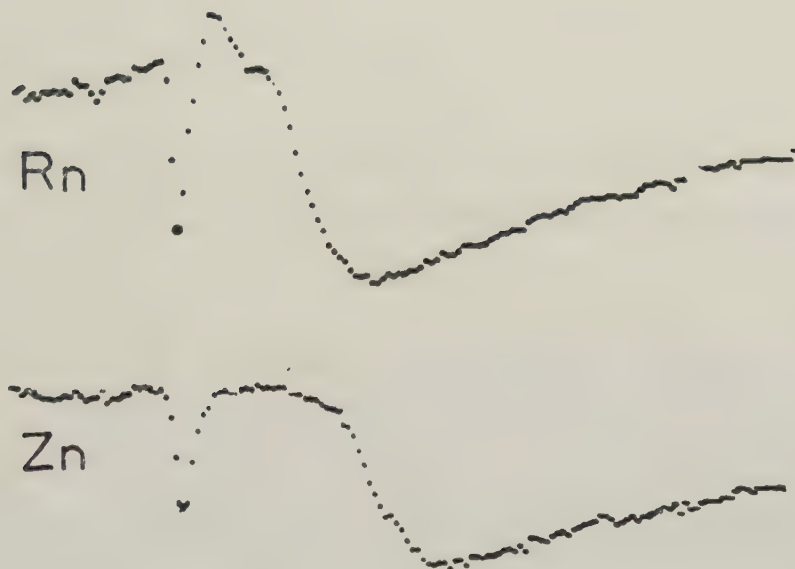
Le tracé moyenné présente souvent, quelques millisecondes après le premier complexe positif-négatif-positif de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique, une onde négative due à la sommation de réponses répétitives se produisant avec un délai stable par rapport à la première réponse. Nous avons constaté que l'importance des effets du nickel sur le décours temporel de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique varie considérablement d'une préparation à l'autre.



- Figure 22 -

Effet du nickel sur la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique.

Jonction neuro-musculaire de muscle couturier de Grenouille. Transmission bloquée par défaut de calcium et présence de 2mM/l de magnésium. Enregistrement par microélectrode. Chaque trace résulte du moyennage automatique de 200 traces successives ; l'intervalle entre deux points successifs représente 40 microsecondes. 1 : Ringer de référence ; 2 : Ringer + Ni^{++} (0,5mM/l) pendant 5 minutes ; 3 : pendant 10 minutes. ; 4, 5 et 6 : retour au Ringer de référence depuis 10 - 20 - 30 minutes. La trace 6 a été enregistrée à un gain plus élevé.



- Figure 23 -

Modification du décours temporel de l'activité propagée pré-synaptique et du délai synaptique minimum en présence de zinc. Enregistrement à l'aide d'une microélectrode extracellulaire. La transmission synaptique était interrompue par substitution de magnésium (2mM) au calcium dans le Ringer. Chaque trace résulte du moyennage de 200 réponses successives. 40 microsecondes entre chaque point.

Trace supérieure : enregistrement en présence du Ringer de référence.

Trace inférieure : Ringer + Zn^{++} (0,2mM). Le courant traversant la pipette de calcium a été augmenté en présence de zinc pour garder constant le contenu quantique moyen du ppm.

TABLEAU II

MODIFICATION DE LA DUREE DES DIFFERENTES PHASES DE LA DERIVEE
SECONDE DU POTENTIEL D'ACTION PRESYNAPTIQUE PAR LE ZINC (0,1 mM)

Les lettres a, b, c, e, f, g, désignent les différentes ondes
prises en considération (figure 18). Durées en microsecondes.

	Ringer				Ringer + zinc (0,1 mM)		
	a	b	c		e	f	g
	360	480	400		440	520	400
	240	280	360		250	400	200
	240	400	360		240	400	-
	200	280	240		240	280	-
	280	360	320		240	320	320
	400	400	360		440	520	320
Moyenne	286	366	340		275	406	310
Erreur standard	± 31	± 31	± 22		± 41	± 40	± 41

La figure 22 montre toutefois que les effets du nickel sont qualitativement semblables à ceux de l'uranyle.

- la durée de la première onde positive est peu affectée par la présence de nickel (0,5 mM),
- la durée de l'onde négative est légèrement augmentée,
- la deuxième onde positive est réduite en amplitude et sa durée augmentée.

La durée totale de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique est augmentée en présence de nickel.

3° - Action du zinc.

A la concentration de 0,1 mM le zinc ne provoque pas de réponses répétitives à la stimulation analogues à celles que nous avons observées en présence de nickel. Mais l'action du zinc est rarement réversible.

Nous avons rassemblé dans le tableau II les résultats de 6 expériences. Les durées des différentes phases de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique (figure 23) sont modifiées de la façon suivante :

- la première onde positive est peu affectée. Sa durée est de 286 ± 31 μ s en présence du Ringer de référence et de 275 ± 41 μ s en présence de zinc,
- la durée totale de l'onde négative est augmentée en présence de zinc : elle est de 366 ± 31 μ s en présence du Ringer de référence et de 716 μ s en présence de zinc.
- la deuxième onde positive qui dure 340 ± 22 μ s en présence de Ringer de référence n'est généralement plus décelable en présence de zinc. Par suite, la durée totale de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique, qui était de 983 μ s

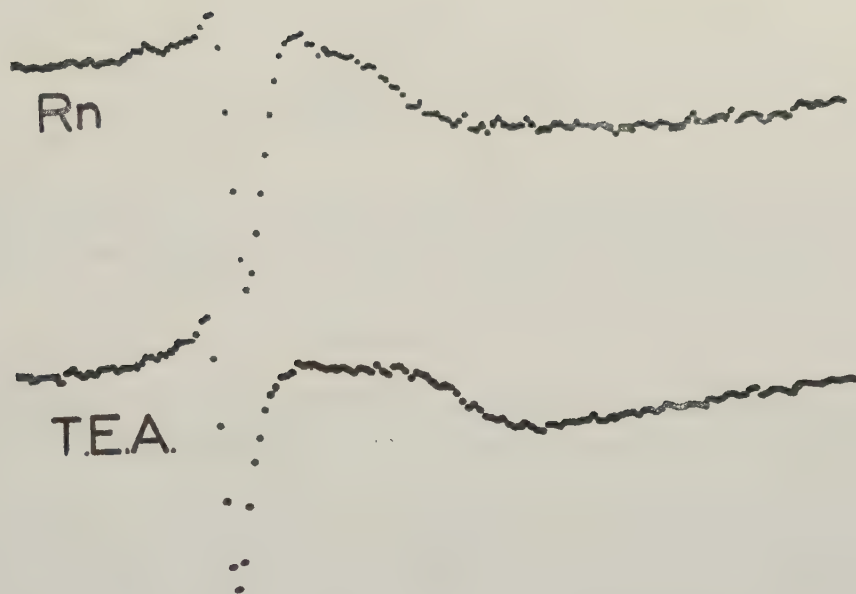


Figure 24 .

Modification du décours temporel de l'activité propagée présynaptique et du délai synaptique minimum en présence de TEA. Enregistrement à l'aide d'une microélectrode extracellulaire. La transmission synaptique était interrompue par substitution de magnésium (2 mM) au calcium du Ringer. Chaque trace résulte du moyennage de 200 réponses successives. 40 microsecondes entre chaque point.

Trace supérieure : enregistrement en présence de Ringer.

Trace inférieure : Ringer + TEA (0,5 mM). Le courant traversant la pipette de calcium a été diminué en présence de TEA pour garder constant le contenu quantique moyen du p.p.m.

TABLEAU III

MODIFICATION DE LA DUREE DES DIFFERENTES PHASES DE LA DERIVEE
SECONDE DU POTENTIEL D'ACTION PRESYNAPTICQUE PAR LE TEA (0,5 mM)

Les lettres a, b, c, e, f, g, désignent les différentes ondes
prises en considération (figure 18). Durées en microsecondes.

	Ringer				Ringer + TEA		
	a	b	c		e	f	g
	200	360	280		280	360	200
	240	400	280		280	360	200
	280	480	520		240	520	400
	240	480	520		240	520	360
Moyenne	240	430	400		260	440	290
Erreur standard	$\pm$ 16	$\pm$ 30	$\pm$ 69		$\pm$ 11	$\pm$ 46	$\pm$ 52

en présence de Ringer de référence n'a pu être évaluée en présence de zinc.

La durée totale des deux premières ondes est de 652 μ s en présence de Ringer de référence (colonnes a + b du tableau II), et de 990 μ s en présence de zinc (colonnes e + f + g du tableau II). L'accroissement de la durée des deux premières ondes est de 50% environ.

4° - Action du tétraéthyl-ammonium (TEA).

En présence de TEA (0,5 mM), le décours temporel de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique a été modifiée de la même façon qu'en présence des ions précédemment étudiés (figure 24) :

- la première onde positive est peu affectée. Sa durée est de 240 ± 16 μ s en présence de Ringer de référence et de 260 ± 11 μ s en présence de TEA,

- la durée de l'onde négative est de 430 ± 30 μ s en présence de Ringer de référence et de 730 μ s en présence de TEA,

- la deuxième onde positive n'est souvent plus décelable en présence de TEA.

La durée totale des deux premières ondes est augmentée en moyenne de 40%. Cette durée est de 670 μ s en présence de Ringer de référence (colonnes a + b du tableau III) et de 990 μ s en présence de TEA (colonnes e + f + g du tableau III).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Dans nos conditions expérimentales le décours temporel de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique

est modifié par les ions étudiés et par l'ion uranyle en particulier.

Nous avons toujours constaté que :

- la première onde positive est généralement moins affectée que les autres ondes,

- l'onde négative est nettement modifiée. Sa durée est augmentée par l'apparition d'une phase lente (colonne g des tableaux I, II et III) qui caractérise la fin de cette onde négative en présence des ions étudiés,

- la deuxième onde positive n'est généralement plus décelable.

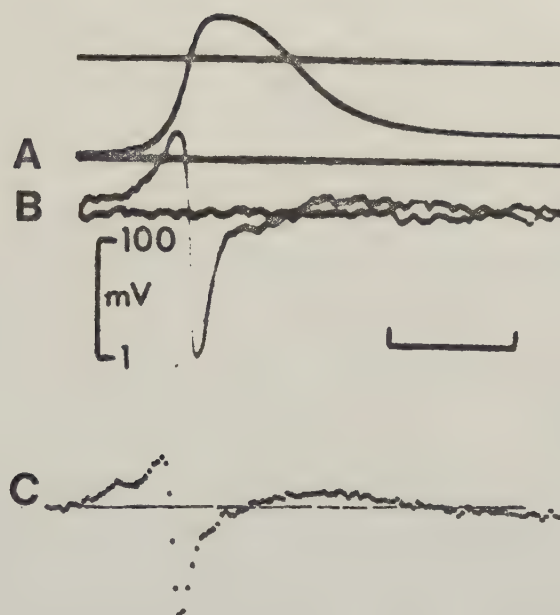
Le développement d'une phase lente à la fin de l'onde négative et l'évolution de la deuxième onde positive méritent une analyse plus détaillée.

La figure 25 reproduit deux tracés publiés par KATZ et MILEDI (1965a). Ces tracés montrent, recueillis simultanément sur la même fibre musculaire, le potentiel d'action (A) dérivé à l'aide d'une microélectrode intracellulaire, et sa dérivée seconde (B) enregistrée à l'aide d'une microélectrode extracellulaire placée à la surface de la cellule. La figure 25 reproduit en outre un tracé (C) que nous avons extrait de la figure 19 (page 70). Ce tracé représente la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique enregistré en présence d'uranyle 0,2 mM.

L'étude de ces différents tracés montre que :

- le sommet du potentiel d'action musculaire (A) est contemporain de la fin de la phase rapide de l'onde négative de la dérivée seconde du potentiel d'action musculaire (B),

- la phase lente caractérisant la fin de l'onde négative, et la deuxième onde positive de la dérivée seconde du poten-



- Figure 25 -

A et B : enregistrements simultanés du potentiel d'action musculaire à l'aide d'une microélectrode intracellulaire (A) et d'une microélectrode extracellulaire (B). Fibre musculaire de Grenouille. (étalonnages : 100 mV pour A et 1 mV pour B. 1 ms). D'après KATZ et MILEDI, 1965a.

C : enregistrement de l'activité propagée dans la terminaison nerveuse en présence d'uranyle (0,2mM). Jonction neuro-musculaire de Grenouille.

Tracé obtenu par moyennage automatique de 500 réponses successives ; 40 microsecondes entre deux points successifs.

tiel d'action musculaire représentent la dérivée seconde de la phase de repolarisation du potentiel d'action musculaire.

La comparaison du décours temporel de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique avec le modèle musculaire nous conduit à admettre que :

- la première onde positive de la dérivée seconde du potentiel d'action (figure 18,d) est contemporaine du début de la phase de dépolarisation du potentiel d'action présynaptique,

- l'onde négative antérieure au début de la phase lente (figure 18,f) correspond à la fin de la phase de dépolarisation du potentiel d'action présynaptique,

- la phase lente (figure 18,g) est contemporaine du début de la phase de repolarisation du potentiel d'action présynaptique et correspond en réalité à une période pendant laquelle la dépolarisation présynaptique est très élevée.

Un problème de terminologie peut se poser : convient-il d'appeler "plateau" la phase lente qui semble caractériser le début de la repolarisation du potentiel d'action présynaptique en présence des ions étudiés ? Il semble que ce terme ne convienne pas si l'on considère comme caractère distinctif du potentiel d'action à plateau une repolarisation rapide après une phase lente au cours de la repolarisation de la membrane pendant le potentiel d'action. Une éventuelle phase rapide de repolarisation à la fin du potentiel d'action présynaptique devrait se traduire par une deuxième onde, en principe négative puis positive, décalée dans le temps par rapport à la première onde négative du tracé. Il est évident que notre technique d'enregistrement permet difficilement de mettre en évidence une telle onde qui, si elle existe, doit être de faible amplitude. Nous pensons toutefois que l'absence de cette onde doit vraisemblablement

être attribuée à l'existence d'une phase de repolarisation lente et progressive de la membrane présynaptique, ne présentant pas de rupture de pente telle que celle qui caractérise la fin d'un plateau. L'augmentation de durée et la diminution d'amplitude de la deuxième onde positive à mesure que se développe l'action des ions étudiés nous paraissent fournir des arguments favorables à une telle interprétation.

— 0 —

CHAPITRE II

MODIFICATION DU DECOURS TEMPOREL DE LA LIBERATION DU MEDiateur.

A - MODIFICATION DU DELAI SYNAPTIQUE MINIMUM.

Les travaux de KATZ et MILEDI (1967c) ont montré que le temps qui s'écoule entre le début d'une dépolarisation imposée à la terminaison nerveuse et le début de la dépolarisation postsynaptique par le médiateur dépend de la durée de la dépolarisation imposée à la terminaison nerveuse.

Nous avons tout d'abord étudié les effets des ions qui augmentent la durée du potentiel d'action présynaptique sur le délai synaptique minimum.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

Le délai synaptique a été mesuré entre le maximum de l'onde négative de la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique et le début de la dépolarisation postsynaptique par le médiateur, recueillis en un point de la jonction neuro-musculaire à l'aide d'une microélectrode extracellulaire. Dans ces conditions expérimentales la mesure du délai synaptique n'est pas faussée par le délai de conduction dans la terminaison nerveuse lorsque celle-ci est envahie par le potentiel d'action.

Le dispositif expérimental est le même que celui qui a été décrit dans le chapitre précédent. La transmission est bloquée par immersion de la préparation dans une solution de Ringer dont le calcium a été remplacé par du magnésium (2 mM). Une élec-

trode d'enregistrement extracellulaire est placée par approximations successives en un point d'une jonction neuro-musculaire où peuvent être recueillis les activités locales pré- et post-synaptiques. Du calcium est appliqué à cet endroit par ionophorèse. Le courant traversant la pipette de calcium est réglé de façon que la libération de médiateur par la terminaison nerveuse ne soit rétablie qu'au voisinage du point où les activités sont recueillies.

Le délai synaptique minimum est mesuré d'une part sur des enregistrements moyennés automatiquement, d'autre part en recherchant la valeur minimum du délai synaptique dans une série de plusieurs centaines de mesures (figure 26).

RESULTATS EXPERIMENTAUX.

En présence du Ringer de référence le délai synaptique minimum est voisin de 0,5 millisecondes.

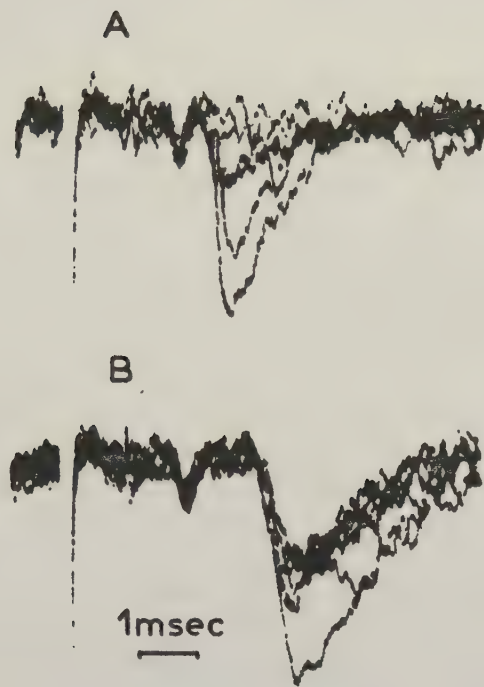
En présence des agents utilisés pour augmenter la durée du potentiel présynaptique ce délai synaptique minimum est toujours augmenté.

1°- Action de l'uranyle.

Au cours de 7 expériences (tableau IV) le délai synaptique minimum a été augmenté de 170% en moyenne par l'uranyle à la concentration de 0,2 mM (figures 26 et 27).

2°- Action du nickel.

Le délai synaptique minimum a été augmenté de 23% au cours d'une expérience en présence de nickel 0,2 mM et de 98% (moyenne de 3 expériences) en présence de nickel 0,5 mM (tableau IV).

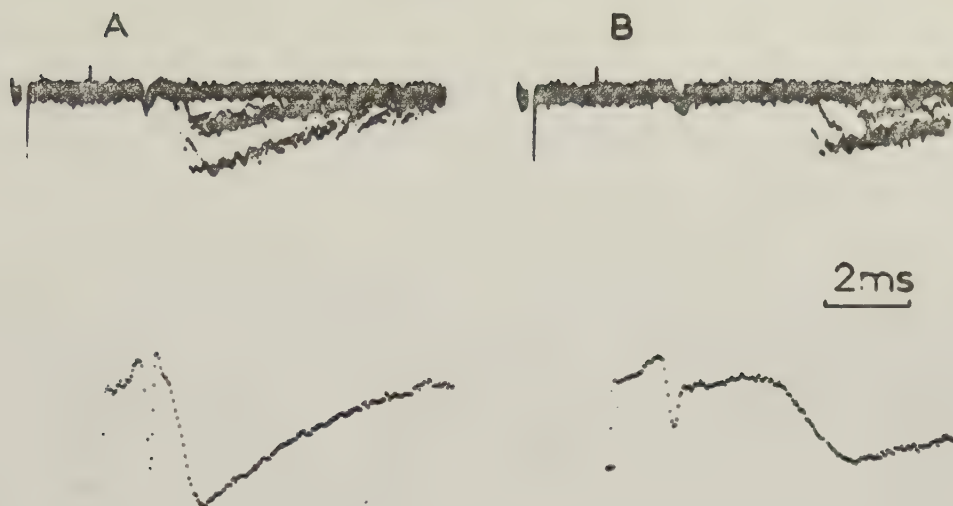


- Figure 26 -

Modification du délai synaptique en présence d'uranyle (0,2mM). Enregistrement par microélectrode extracellulaire. La transmission est bloquée par défaut de calcium et addition de magnésium dans le Ringer. Du calcium est appliqué localement par ionophorèse pour rétablir la libération de médiateur au point d'enregistrement.

A : Ringer de référence ; nombreux échecs à la transmission.

B : Ringer + uranyle (0,2 mM) ; on ne constate plus d'échecs à la transmission et le délai synaptique est augmenté.



- Figure 27 -

Modification du délai synaptique en présence d'uranyle ($0,2\text{mM}$). Enregistrement par microélectrode externe placée au contact de la terminaison nerveuse d'une jonction neuro-musculaire de Grenouille. La transmission était bloquée par substitution de magnésium (2mM) au calcium du Ringer. Du calcium était appliqué par ionophorèse pour rétablir la libération de médiateur au point d'enregistrement. Prostigmine présente ($1\mu\text{g/ml}$).

Traces supérieures : superposition de 8 traces en réponse à 8 stimulations successives.

Traces inférieures : moyennage automatique des réponses à 500 stimulations successives (40 microsecondes entre 2 points successifs).

A : enregistrement en présence de Ringer. B : enregistrement en présence de Ringer + UO_2 ($0,2\text{mM}$) ; en B, l'application locale de calcium a été réduite pour garder un pourcentage d'échecs à peu près constant. L'enregistrement moyenné A a été obtenu avec un gain double de celui de l'enregistrement moyenné B.

TABLEAU IV

MODIFICATION DU DELAI SYNAPTIQUE MINIMUM
PAR LES DIFFERENTS IONS UTILISES

Délais exprimés en microsecondes

Ringer	Ringer + UO_2	Accroissement
520	2400 (0,2 mM)	+ 360%
480	2400 "	+ 400%
360	920 "	+ 150%
480	1000 "	+ 100%
480	680 "	+ 40%
520	1600 "	+ 200%
800	1840 "	+ 130%
Ringer	Ringer + nickel	Accroissement
590	727 (0,2 mM)	+ 23%
454	636 (0,5 mM)	+ 40%
318	545 "	+ 71%
272	772 "	+ 183%
Ringer	Ringer + zinc	Accroissement
580	1160 (0,1 mM)	+ 130%
720	800 "	+ 10%
560	680 "	+ 20%
880	1400 "	+ 60%
Ringer	Ringer + TEA	Accroissement
363	454 (0,2 mM)	+ 25%
636	1090 (0,4 mM)	+ 71%
409	818 (0,5 mM)	+ 100%
454	681 "	+ 50%
545	818 "	+ 50%
681	1000 "	+ 46%

3°- Action du zinc.

Le délai synaptique minimum a été augmenté de 55% (4 expériences) par le zinc à la concentration de 0,1 mM (figure 23), (tableau IV).

4°- Action du TEA.

Le TEA a été utilisé à trois concentrations différentes. Nous avons toujours constaté une augmentation du délai synaptique minimum. Les résultats de ces expériences figurent dans le tableau IV.

En présence de TEA 0,2 mM le délai synaptique minimum a été augmenté de 21%. L'augmentation a été de 29% en présence de TEA 0,4 mM et de 77% en présence de TEA 0,5 mM.

DISCUSSION ET CONCLUSION.

Nos résultats expérimentaux montrent que le délai synaptique minimum est toujours augmenté par les ions qui allongent la durée du potentiel d'action présynaptique. Cette augmentation peut être interprétée à l'aide des résultats obtenus par KATZ et MILEDI sur la jonction neuro-musculaire de Grenouille et sur la synapse neuro-neuronique de Calmar bloquées par la tétrodotoxine. Les auteurs ont montré en effet que la libération du médiateur évoquée par une dépolarisation imposée est retardée tant que la membrane présynaptique est maintenue à un niveau de dépolarisation suffisamment élevé. L'augmentation du délai synaptique minimum que nous avons constatée peut alors être attribué à une augmentation de durée du potentiel présynaptique maintenant plus longtemps à un niveau de dépolarisation élevé la membrane présynaptique.

Les effets de l'uranyle sur le délai synaptique minimum sont plus importants que ceux des autres ions. Ce fait ne

doit pas nous surprendre : nous avons montré en effet dans le précédent chapitre que, parmi les ions étudiés, l'uranyle est celui qui allonge le plus la durée du potentiel d'action présynaptique.

B - MODIFICATION DU DECOURS TEMPOREL DE LA PROBABILITE DE LIBERATION D'UN QUANTUM DE MEDiateur APRES UN POTENTIEL D'ACTION.

Le décours temporel de l'augmentation de probabilité de libération du médiateur après un potentiel d'action ou une dépolarisation imposée à la terminaison nerveuse est décrit par l'histogramme des délais synaptiques mesurés au cours d'une série de plusieurs centaines de stimulations (KATZ et MILEDI, 1965b). Cet histogramme ne peut être valablement établi que dans des conditions de blocage de la transmission telles que la libération du médiateur ait lieu par quanta isolé. Dans le cas contraire, lorsque le contenu quantique moyen du potentiel de plaque motrice (p.p.m.) est élevé, il n'est pas possible de mesurer le délai synaptique de chacun des quanta constituant le p.p.m., ce qui conduit à sous-estimer les valeurs des délais synaptiques des quanta survenant immédiatement après la dépolarisation unitaire la plus précoce.

Lorsque la durée d'une dépolarisation électrotonique imposée à la terminaison nerveuse est augmentée, on constate que la quantité de médiateur libérée est plus importante et que le délai minimum, la valeur modale et les limites extrêmes de l'histogramme sont décalés vers des valeurs plus élevées (KATZ et MILEDI 1965 b).

Les résultats que nous venons de rappeler ont été obtenus sur des préparations bloquées par la tétródotoxine. Par contre les effets de l'augmentation de durée du potentiel présynaptique sur l'histogramme des délais synaptiques n'étaient

pas connus. Nous avons donc étudié l'action des ions uranyle, zinc, nickel et TEA sur l'histogramme des délais synaptiques en raison de leurs effets sur la durée du potentiel d'action présynaptique.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

Nous avons utilisé le même dispositif expérimental que celui ayant permis d'étudier les modifications du délai synaptique minimum. Une microélectrode extracellulaire permet de recueillir la dérivée seconde du potentiel d'action présynaptique et le ppm "externe" en un point de la jonction neuro-musculaire. Du calcium est appliqué localement par ionophorèse. Le courant parcourant la pipette de calcium est réglé de façon à obtenir 70% d'échecs à la transmission environ. Dans ces conditions le contenu quantique moyen du ppm "externe" est voisin de 0,35 et la loi de Poisson permet de prévoir 129 ppm monoquantiques, 16 ppm di-quantiques, 3 ppm tri-quantiques, etc..., au cours d'une série de 500 stimulations successives.

Au cours de nos expériences, nous avons constaté que l'uranyle et le TEA augmentent le contenu quantique moyen du ppm tandis que le nickel et le zinc le diminuent. Afin de pouvoir établir et comparer les histogrammes de délais synaptiques en présence et en l'absence des ions étudiés, le contenu quantique moyen du ppm a été maintenu approximativement constant en modifiant la concentration locale en calcium. Dans ce but nous avons fait varier l'intensité du courant traversant la pipette de calcium en présence de la solution contenant l'ion étudié.

En présence du Ringer de référence les réponses à une série de 500 stimulations successives étaient enregistrées photographiquement. Nous avons procédé de même en présence de

l'ion étudié et après retour aux conditions initiales. Après l'expérience les délais synaptiques étaient mesurés à partir des enregistrements et dans chaque cas le contenu quantique moyen calculé à partir du nombre d'échecs à la transmission. Les histogrammes étaient établis après avoir groupé les mesures en une trentaine de classes environ. Quelques uns de ces histogrammes sont présentés dans les figures 28 et 29.

1°- Action de l'uranyle.

Les histogrammes de délais synaptiques représentés sur la figure 28, I et II, traduisent les résultats de deux expériences réalisées sur deux jonctions différentes.

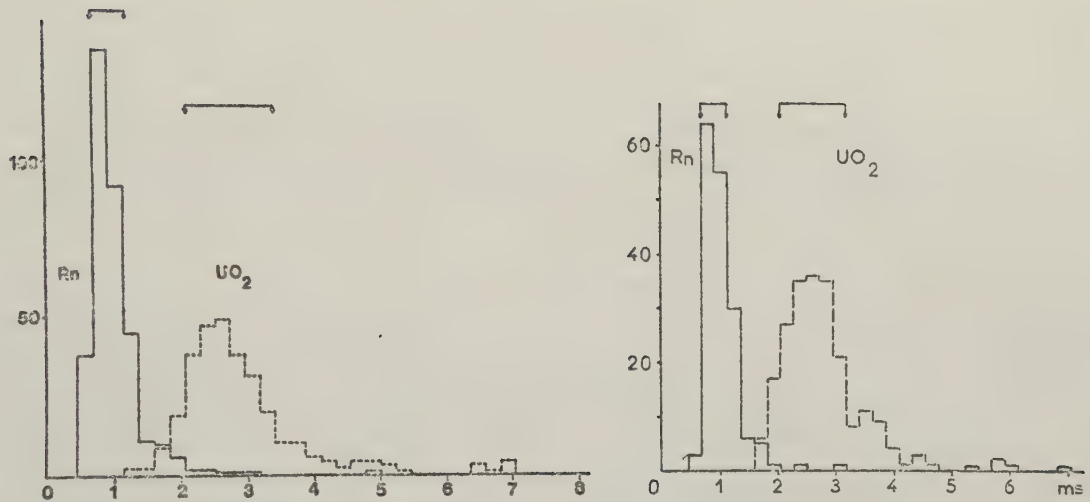
Sur la figure 28 I, les valeurs extrêmes des délais synaptiques en présence de Ringer normal ont été de 0,5 ms et 3 ms. La valeur modale est de 0,75 ms et 71% des mesures sont comprises dans un intervalle de 0,5 ms (limites 0,7 et 1,2 ms).

En présence d'uranyle à la concentration de 0,2mM, le délai synaptique minimum est légèrement supérieur à 1 ms, le délai synaptique maximum de 7 ms et la valeur modale de 2,5 ms. Les limites entre lesquelles sont comprises 71% des mesures, de part et d'autre de la valeur modale, sont 2 et 3,4 ms, soit un intervalle de 1,4 ms.

Les histogrammes de la figure 28, II sont en tous points comparables à ceux de la figure 28, I.

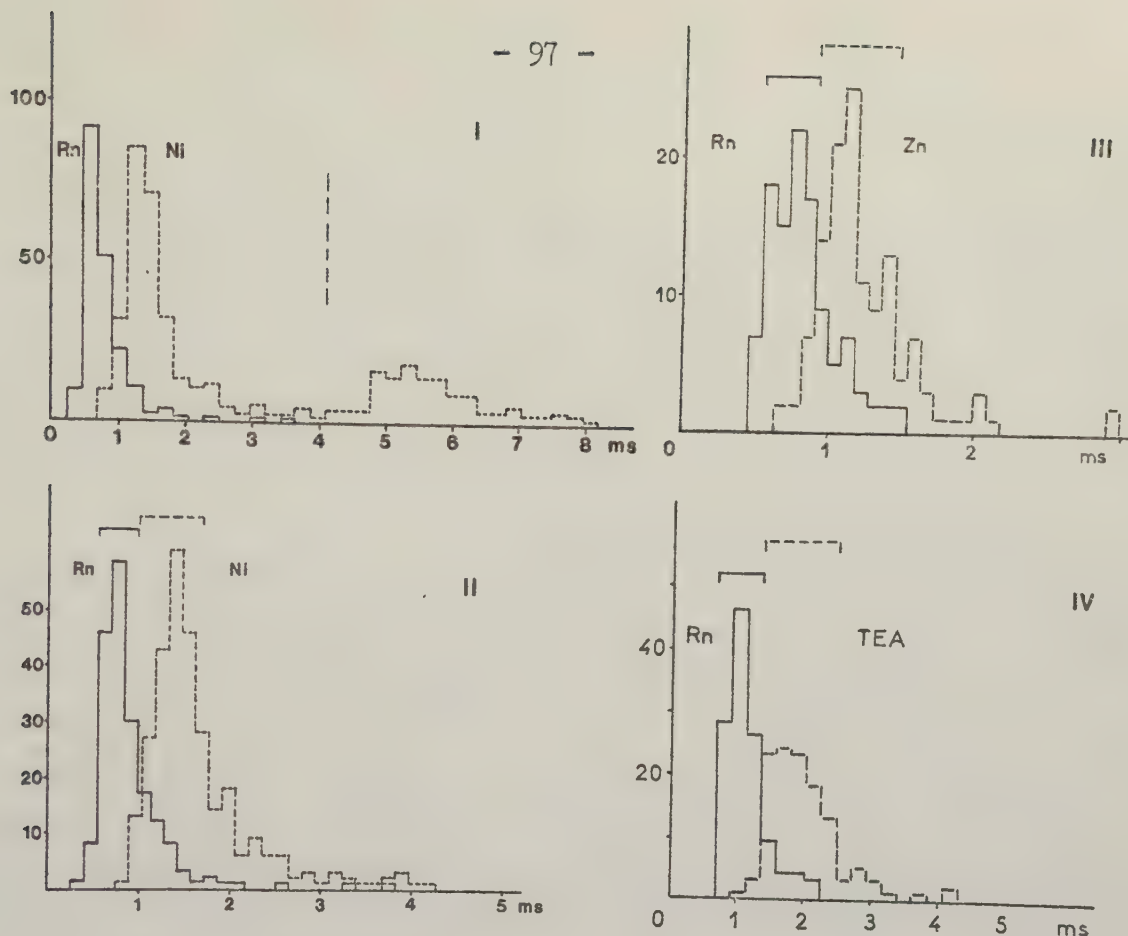
2°- Action du nickel.

Les effets du nickel sur le décours temporel de la libération du médiateur sont visibles dans la première partie du tableau V.



- Figure 28 -

Distribution des délais synaptiques mesurés en présence de Ringer et en présence de Ringer + UO_2 (0,2 mM). I et II : deux expériences faites sur deux jonctions différentes. Enregistrement extracellulaire réalisé à l'aide d'une microélectrode remplie d'une solution de NaCl. Le calcium du Ringer était remplacé par du magnésium (2mM). Du calcium était appliqué localement par ionophore ; le courant d'application était réglé de façon à obtenir 50% d'échecs à la transmission environ (voir texte). Trait plein: histogrammes des mesures faites en présence de Ringer ; trait pointillé: histogrammes des mesures faites en présence de Ringer + uranyle. Les traits horizontaux indiquent les limites entre lesquelles sont comprises 71% des mesures.



- Figure 29 -

Distribution des délais synaptiques mesurés en présence de Ringer (traits pleins) et en présence de Ringer + Ni^{++} , Zn^{++} ou TEA. Les tracés horizontaux indiquent les limites entre lesquelles sont comprises 71% des mesures. Technique décrite dans le texte.

I : action du nickel (0,5mM). En présence de nickel l'histogramme présente un deuxième sommet vers 5,3 ms dû à des réponses répétitives de l'élément présynaptique.

II : mêmes mesures qu'en I ; l'histogramme détaillé des mesures inférieures à 4 ms.

III : action du zinc (0,2mM).

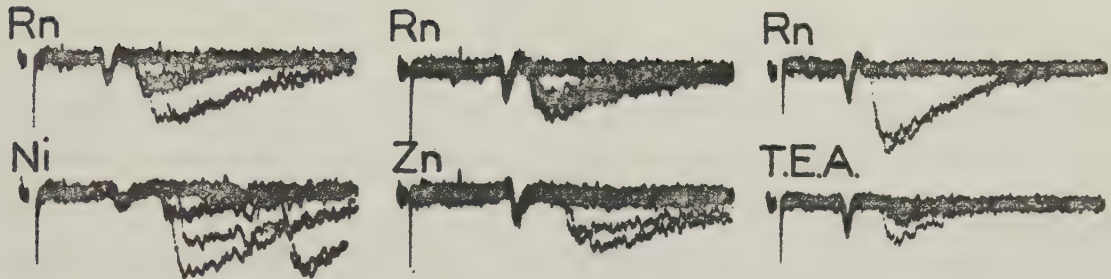
IV : action du TEA (0,4mM).

TABLEAU V

MODIFICATION DES PRINCIPAUX PARAMETRES CARACTERISANT LES HISTOGRAMMES DE DELAIS SYNAPTIQUES ETABLIS DANS LES CONDITIONS INDIQUEES DANS LE TEXTE. LE CONTENU QUANTIQUE MOYEN A ETE CALCULE A PARTIR DU POURCENTAGE D'ECHECS A LA TRANSMISSION.

Les durées sont exprimées en microsecondes.

Solutions	Délai synaptique minimum	Délai synaptique moyen	Valeur modale	Intervalle de temps contenant 71% des mesures	Contenu quantique
Ringer	590	1013	863	450	0,80
Rn + Ni 0,2mM	727 + 23%	1072 + 0,5%	1000 + 16%	680 + 51%	1,14
Ringer	454	909	672	450	0,50
Rn + Ni 0,5mM	636 + 40%	1220 + 34%	1036 + 54%	630 + 40%	0,33
Ringer	318	663	590	320	0,70
Rn + Ni 0,5mM	545 + 71%	922 + 39%	909 + 54%	410 + 28%	0,27
Ringer	272	777	590	410	0,50
Rn + Ni 0,5mM	772 + 183%	1527 + 96%	1272 + 115%	720 + 75%	0,58
Ringer	363	622	490	180	0,26
Rn + Zn 0,1mM	545 + 50%	825 + 32%	681 + 39%	270 + 50%	0,28
Ringer	450	800	750	360	0,23
Rn + Zn 0,2mM	630 + 40%	1303 + 62%	1100 + 46%	540 + 50%	0,24
Ringer	363	731	568	500	0,27
Rn+TEA 0,2mM	454 + 25%	871 + 19%	795 + 40%	500 + 0%	0,68
Ringer	680	1181	1000	454	0,70
Rn+TEA 0,4mM	904 + 33%	1938 + 64%	1681 + 68%	1100 + 142%	0,27
Ringer	409	1113	772	590	0,35
Rn+TEA 0,5mM	818 + 100%	1486 + 33%	1227 + 59%	704 + 19%	0,27



- Figure 30 -

Modification de la dérivée seconde du potentiel d'action pré-synaptique et du délai synaptique par les ions Ni^{++} , Zn^{++} et TEA. Enregistrement à l'aide d'une microélectrode externe placée en un point actif d'une jonction neuro-musculaire de muscle couturier de Grenouille. La transmission était bloquée par une solution de Ringer sans calcium et contenant 2 mM/l de magnésium ; du calcium était appliqué localement par ionophorèse à l'aide d'une micropipette remplie d'une solution de CaCl_2 . Chaque enregistrement est constitué de plusieurs traces successives superposées. Trace supérieure : enregistrement en Ringer. Trace inférieure : enregistrement en présence de Ringer contenant du nickel, du zinc ou du TEA selon le cas. La quantité de calcium appliquée localement était alors modifiée pour garder un pourcentage d'échecs sensiblement constant. Noter la présence de réponses répétitives en présence de nickel et les effets postsynaptiques du TEA.

Les histogrammes de la figure 29, I, II, donnent la distribution des délais synaptiques en présence de Ringer de référence et de Ringer contenant du nickel (0,5 mM).

En présence de nickel, un ou plusieurs potentiels d'action présynaptiques spontanés apparaissent après la réponse normale du nerf à la stimulation et provoquent la libération de quanta de médiateur (figure 29,I). Comme ces potentiels d'action spontanés ne sont pas toujours identifiables sur les enregistrements (figure 30), des délais synaptiques apparemment élevés (voisins de 5,5 ms) ont été mesurés et constituent le deuxième sommet de l'histogramme (figure 29,I).

Nous avons donc établi un deuxième histogramme (figure 29,II) dans lequel ne figurent que les valeurs de l'histogramme I correspondant à des délais inférieurs à 4 ms.

La lecture du tableau IV permet de constater l'augmentation du délai synaptique minimum, de la valeur modale et de l'écart entre les limites à l'intérieur desquelles sont comprises 71% des mesures.

3°- Action du zinc.

La figure 29,III montre les effets du zinc (0,2 mM) sur l'histogramme des délais synaptiques.

Dans le tableau V figurent les résultats de 2 expériences. Dans l'une, nous avons utilisé une concentration de zinc de 0,1 mM, dans l'autre la concentration de zinc était de 0,2mM (figure 30).

En présence de zinc (0,1mM), le délai synaptique minimum a été augmenté de 50%. La valeur modale est passée de 490 μ s à 681 μ s soit une augmentation de 39%. L'écart des limites entre lesquelles sont comprises 71% des mesures a été aug-

menté de 50%.

En présence de zinc (0,2 mM) le délai synaptique minimum a été augmenté de 40%. La valeur modale est passée de 750 μ s à 1100 μ s soit une augmentation de 46%. L'écart entre les limites à l'intérieur desquelles sont comprises 71% des mesures a été augmenté de 50%.

Dans ces deux expériences le retour aux conditions initiales n'a pas été obtenu du fait de l'irréversibilité de l'action du zinc. L'aspect qualitatif de ces résultats peut cependant être pris en considération.

4°- Action du TEA.

Dans le tableau V figurent les résultats d'expériences réalisées en présence de TEA à différentes concentrations.

Les effets du TEA à la concentration de 0,4 mM, sur l'histogramme des délais synaptiques sont visibles sur la figure 29, IV. Le délai synaptique minimum a été augmenté de 33%. La valeur modale qui était de 1000 μ s en présence de Ringer de référence a atteint une valeur de 1681 μ s en présence de TEA soit une augmentation de 68%. Enfin l'écart entre les limites dans lesquelles sont comprises 71% des mesures a été augmenté de 142% (454 μ s en présence de Ringer de référence et 1100 μ s en présence du TEA).

Le TEA n'a pas pu être utilisé à des concentrations supérieures à 0,5 mM en raison des effets curarisants de cette substance sur la membrane post-synaptique (figure 30). De tels effets avaient déjà été observés par KOKETSU en 1958. Ils rendent difficilement décelables les réponses unitaires post-synaptiques.

DISCUSSION ET CONCLUSION.

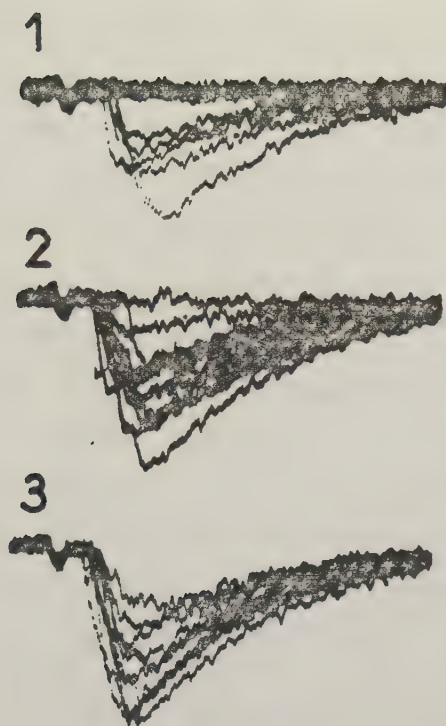
Au cours de ces expériences la quantité de calcium appliqué par ionophorèse a dû être modifiée en présence des ions

uranyle, nickel, zinc et TEA afin de maintenir constant le contenu quantique moyen du ppm. Or KATZ et MILEDI (1965b) ont admis la possibilité d'une légère modification de l'histogramme des délais synaptiques par les variations de la concentration en calcium dans le Ringer. Il était donc nécessaire de nous assurer que les modifications de l'histogramme des délais synaptiques observées n'étaient pas attribuables aux variations de la concentration en calcium dans le Ringer.

La figure 31, montre 3 séries d'enregistrements superposés réalisés en un même point d'une jonction neuro-musculaire pour 3 réglages différents du courant qui parcourt la pipette de calcium, c'est à dire pour trois concentrations différentes de calcium au niveau de la jonction. Les variations des courants d'ionophorèse étaient voisines de celles que nous utilisions dans nos expériences. Les modifications du contenu quantique en fonction des différentes concentrations en calcium se manifestent sur cette figure par une diminution du nombre d'échecs à la transmission et une augmentation de l'amplitude des p.p.m. successifs. Cependant le délai synaptique minimum n'est pas affecté et la proportion de p.p.m. tardifs paraît peu modifiée.

De plus, au cours de nos expériences la concentration locale en calcium a dû être diminuée en présence d'uranyle et de TEA, et augmentée en présence de nickel et de zinc. Or les modifications de l'histogramme des délais synaptiques présentent les mêmes caractères pour tous les ions étudiés. Les résultats obtenus ne peuvent donc pas être attribués aux variations de la concentration locale en calcium.

Nos résultats expérimentaux mettent en évidence la similitude des effets des ions étudiés sur l'histogramme des délais synaptiques. Dans toutes les expériences le délai synaptique minimum, la valeur modale de l'histogramme et l'écart des limites



- Figure 31 -

Activités pré- et post-synaptiques recueillies en un même point de la jonction neuro-musculaire à l'aide d'une microélectrode externe. Le calcium du Ringer était remplacé par du magnésium (2mM). Du calcium était appliqué localement par ionophorèse. Chaque tracé est constitué de la superposition des réponses à une dizaine de stimulations successives. 1, 2 et 3 ont été obtenus pour trois intensités croissantes du courant d'application de calcium.

entre lesquelles sont comprises 71% des mesures sont toujours augmentés. Ceci nous permet de conclure que l'allongement du potentiel d'action présynaptique entraîne toujours un retard dans la libération du médiateur et une augmentation du temps pendant lequel le médiateur est susceptible d'être libéré.

Ces effets sont particulièrement importants en présence d'uranyle 0,2 mM. On peut objecter qu'une augmentation de la concentration des autres ions utilisés pour allonger la durée du potentiel d'action présynaptique aurait permis la mise en évidence d'effets aussi importants que ceux obtenus en présence d'uranyle sur l'histogramme des délais synaptiques. Une telle objection reste théoriquement valable, mais il paraît impossible d'en démontrer pratiquement le bien-fondé, car des concentrations supérieures à celles que nous avons utilisées rendent l'expérimentation aléatoire. C'est ainsi que les concentrations de nickel, égales ou supérieures à 0,5 mM entraînent des réponses répétitives de l'élément présynaptique à la stimulation. Les effets du zinc sont déjà difficilement réversibles aux faibles concentrations utilisées. Le TEA à des concentrations supérieures à 0,5mM a des effets post-synaptiques qui rendent impossible l'identification des p.p.m. unitaires (voir chapitre "Effets post-synaptiques des ions étudiés").

CHAPITRE III

MODIFICATION DE LA QUANTITE DE MEDiateur LIBERE.

A - LIBERATION DU MEDiateur PAR LE POTENTIEL D'ACTION PRESYNAPTIQUE.

I - MODIFICATION DU POTENTIEL DE PLAQUE MOTRICE.

Les effets de l'uranyle, du nickel, du zinc et du TEA sur l'amplitude et le décours temporel du p.p.m. ont été étudiés sur la jonction neuro-musculaire en présence de curare. Il est généralement admis que cet alcaloïde bloque la transmission (cf. JENKINSON, 1960) en entrant en compétition avec l'acétylcholine pour les sites récepteurs post-synaptiques et on sait que ses effets sur l'élément présynaptique peuvent être considérés comme négligeables.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

La préparation neuro-musculaire est placée dans du Ringer contenant 2 mM/l de calcium et 2 microgrammes par millilitre de d-tubocurarine.

Le nerf est stimulé pendant toute la durée de l'expérience à une fréquence constante de 1 à 3 c.p.s.

Dans ces conditions le blocage complet de la transmission est obtenu au bout de 30 minutes environ.

Les p.p.m. sont recueillis à l'aide d'une microélectrode intracellulaire piquée dans la fibre musculaire au niveau de la plaque motrice. La localisation du point de la jonction neuro-musculaire où l'amplitude et la pente de la phase ascendante du p.p.m. sont maximum, est faite par approximations successives. La microélectrode est laissée en place dans la même cellule pendant

toute la durée de l'expérience. Les amplitudes et les durées des différentes phases des p.p.m. sont mesurées à l'aide d'un agrandisseur sur les enregistrements photographiques.

RESULTATS.

1°- Action de l'uranyle.

Dans le tableau VI figurent les résultats de 5 expériences au cours desquelles l'uranyle a été utilisé à la concentration de 0,2mM (figure 32).

En présence d'uranyle 0,2 mM l'amplitude du p.p.m. est augmenté de $194\% \pm 35$ (moyenne de 5 expériences) au bout de 10 minutes d'action.

Le délai entre l'artéfact de stimulation du nerf et le début du p.p.m. est augmenté de $19 \pm 2,5\%$. Ce délai comprend le temps de conduction dans le nerf et le délai synaptique.

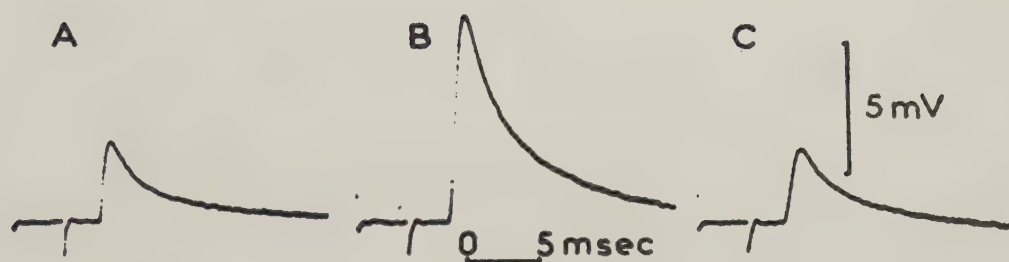
La durée de la phase ascendante du p.p.m. mesurée entre le début de la dépolarisation postsynaptique et le moment où la dépolarisation est maximum est accru de $50,4 \pm 7\%$.

Le temps de demi-repolarisation mesuré à partir du sommet de l'enregistrement est augmenté de $30 \pm 1,5\%$.

On peut assister ensuite à une diminution d'amplitude et à un accroissement de la durée du p.p.m. Ce phénomène n'a pas lieu si l'on ajoute au Ringer du magnésium à la concentration de 5 mM.

2°- Action du nickel.

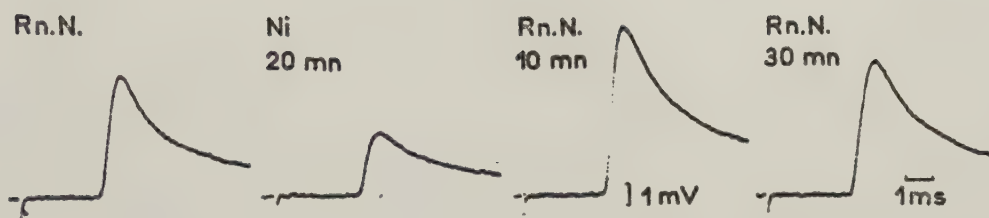
En présence de nickel 0,5 mM (figure 33) le délai entre l'artéfact de stimulation et le début du p.p.m. est légèrement augmenté.



- Figure 32 -

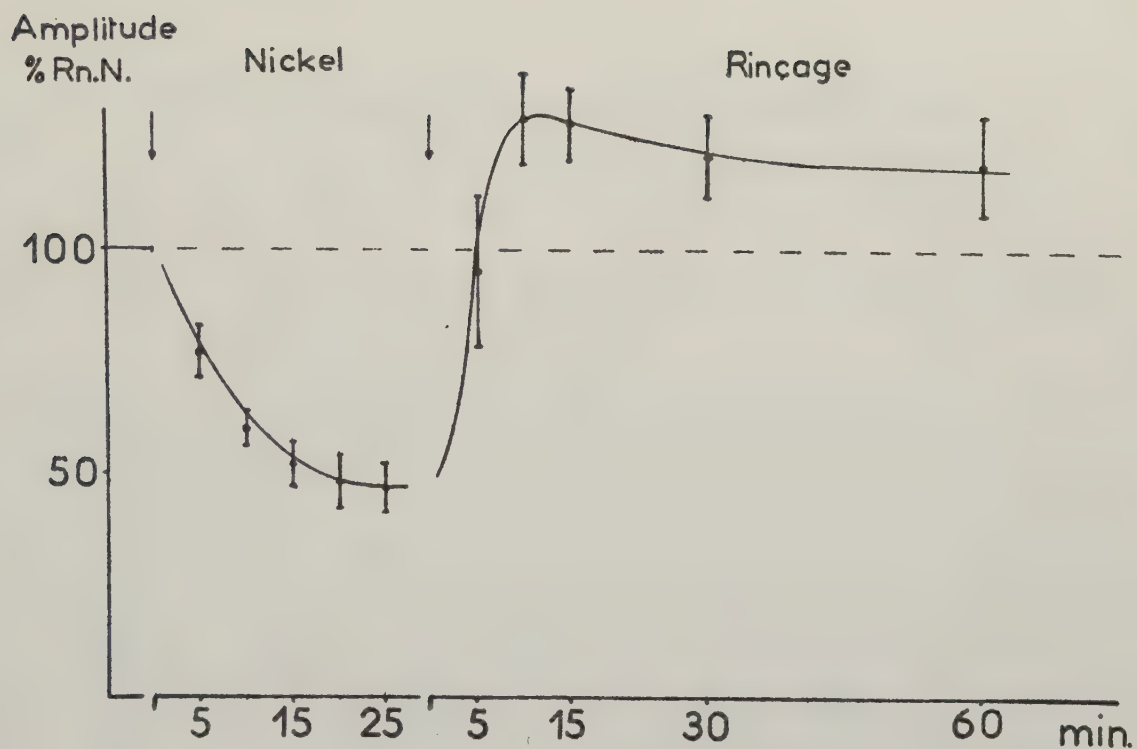
Enregistrement par microélectrode intracellulaire du p.p.m. en présence de d-tubocurarine (2 µg/ml). Modification d'amplitude sous l'action de l'uranyle (0,2 mM).

A : Ringer de référence ; B : Ringer + UO₂ ; C : retour aux conditions initiales.



- Figure 33 -

Enregistrement par microélectrode intracellulaire du p.p.m. en présence de d-tubocurarine (2 $\mu\text{g/ml}$). Modifications d'amplitude pendant et après l'action du nickel.



- Figure 34 -

Variations relatives de l'amplitude moyenne du p.p.m. sous l'action du nickel (0,5 mM). Transmission bloquée par addition de d-tubocurarine (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$). En abscisses, temps mesuré depuis le début de chaque changement de solution. Les traits verticaux représentent la valeur de l'erreur standard de la moyenne pour les 5 expériences.

TABEAU VI

ACTION DE L'URANYLE SUR LA JONCTION NEUROMUSCULAIRE
BLOQUEE PAR LA D-TUBOCURARINE.

Colonne I : Accroissement du délai entre artéfact de stimulation
et début du p.p.m. en %

Colonne II: Accroissement de l'amplitude du p.p.m. en %

Colonne III: Accroissement de la phase ascendante du p.p.m. en %

Colonne IV : Accroissement du temps de demi-descente en %

	I	II	III	IV
	20	330	66	30
	10	130	30	30
	25	190	66	33
	26	170	50	24
	13	150	40	33
Moyenne	19	194	50,4	30
Erreur standard	± 2,5	± 35	± 7	± 1,6

L'amplitude du p.p.m. est diminuée de $50 \pm 11\%$ (moyenne de 5 expériences). Le retour à l'amplitude initiale est obtenu après 5 minutes de rinçage. On observe ensuite une augmentation d'amplitude qui persiste pendant plus de 60 minutes (figures 33 et 34).

La durée de la phase ascendante du p.p.m. n'est pas modifiée. Le temps de demi-repolarisation est augmenté de $25\% \pm 5$ (5 expériences).

3°- Action du zinc.

Les effets du zinc (0,1mM) sur le p.p.m. recueilli à la jonction curarisée sont en tous points comparables à ceux du nickel. En présence de zinc en effet on constate une diminution rapide de l'amplitude du p.p.m. Au cours du rinçage l'amplitude retrouve rapidement sa valeur initiale puis la dépasse. L'amplitude du p.p.m. reste toujours supérieure à sa valeur initiale.

4°- Action du TEA.

Les effets du TEA sur le p.p.m. à la jonction curarisée ont été étudiés par KOKETSU en 1958. Cet auteur a constaté une augmentation moyenne de 250% de l'amplitude du p.p.m. en présence de TEA (0,3mM). Le délai entre l'artéfact de stimulation et le début du p.p.m. est accru de 13%. La durée de la phase de dépolarisation est augmentée de 11% et le temps de demi-repolarisation, de 50%. Pour des concentrations supérieures à 0,3 mM, l'augmentation d'amplitude du p.p.m. n'est visible qu'au début de l'action du TEA. Cette augmentation d'amplitude est suivie ensuite d'une diminution importante. Pour de fortes concentrations de TEA l'amplitude du p.p.m. peut devenir inférieure à sa valeur en présence du Ringer de référence.

Nous avons obtenu des résultats comparables à ceux de KOKETSU.

DISCUSSION ET CONCLUSION.

Les résultats que nous venons d'exposer montrent que l'uranyle, le nickel, le zinc et le TEA augmentent toujours le délai entre l'artéfact de stimulation et le début du p.p.m.

L'augmentation de durée de la phase de dépolarisation du p.p.m. à la jonction curarisée est plus importante en présence d'uranyle qu'en présence de nickel, zinc et TEA.

Le temps de demi-repolarisation est toujours augmenté par les ions étudiés.

Par contre les ions étudiés n'ont pas tous les mêmes effets sur l'amplitude du p.p.m. à la jonction curarisée. L'uranyle et le TEA augmentent l'amplitude du p.p.m., tandis que le nickel et le zinc la diminuent.

L'augmentation du délai entre l'artéfact de stimulation et le début du p.p.m. peut être attribué à l'augmentation du délai synaptique minimum sous l'action des ions étudiés. On peut voir en effet sur les figures 19 et 30 que les augmentations du temps de conduction de la fibre nerveuse, parfois décelables, sont peu importants comparés aux variations de délai synaptique mises en évidence (voir aussi figures 21, 23, 24 et 26).

La variation du déroulement temporel du p.p.m. en présence des ions étudiés peut être expliquée par l'augmentation du temps pendant lequel le médiateur est susceptible d'être libéré après un potentiel d'action nerveux (chapitre II,B). D'éventuelles propriétés anticholinestérasiques des ions étudiés pourraient aussi être invoquées pour expliquer l'augmentation de durée du p.p.m. Mais la suite de notre travail montrera que de

tels effets sont exclus.

Les variations d'amplitude du p.p.m. en présence des ions étudiés sont plus difficiles à interpréter. Elles peuvent être dues soit à une modification de la quantité de médiateur libéré, soit à d'éventuels effets post-synaptiques. Le rôle qui doit être attribué à chacun de ces facteurs est précisé dans les chapitres suivants.

II - MODIFICATION DU CONTENU QUANTIQUE MOYEN DU POTENTIEL DE PLAQUE MOTRICE.

Le contenu quantique moyen du p.p.m. peut être calculé dans certaines conditions expérimentales en s'affranchissant de tout effet post-synaptique. Cette méthode décrite par DEL CASTILLO et KATZ (1954b) permet de calculer le contenu quantique moyen m du p.p.m. à l'aide de la relation :

$$m = \frac{1}{n} \frac{\text{nombre de stimulations}}{\text{nombre d'échecs à la transmission}}$$

Dans ce chapitre nous avons étudié les effets de l'uranyle, du nickel, du zinc et du TEA sur le contenu quantique du p.p.m. calculé à l'aide de la relation ci-dessus.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

La préparation est placée dans une solution de Ringer appauvrie en calcium (0,4mM) et à laquelle on a ajouté du magnésium (5 mM). Dans ces conditions le blocage de la transmission est obtenu au bout de 15 à 20 mn environ.

La préparation est stimulée à une fréquence de 1 à 3 cycles par seconde pendant toute la durée de l'expérience.

Une microélectrode intracellulaire est piquée dans

une fibre musculaire au niveau de la plaque motrice.

Dans les conditions de blocage utilisées on constate que la majorité des cellules superficielles présentent une proportion d'échecs à la transmission voisine de 50%.

Les réponses à 100 ou 200 stimulations successives du nerf sont enregistrées lorsque la préparation est placée dans le Ringer de référence. Le Ringer contenant l'ion étudié est ensuite substitué au Ringer de référence et une nouvelle série de réponses à 100 ou 200 stimulations est enregistrée. Une dernière série de réponses est filmée après retour aux conditions initiales.

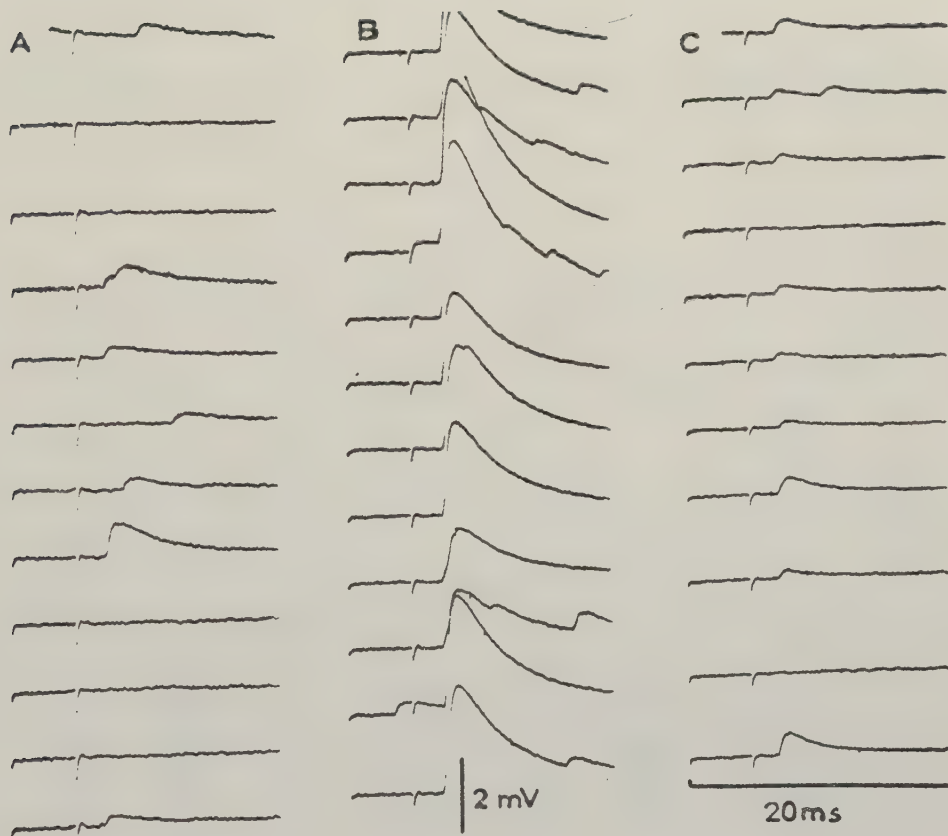
RESULTATS EXPERIMENTAUX.

1°- Action de l'uranyle.

En présence d'uranyle nous avons constaté une diminution spectaculaire du nombre d'échecs à la transmission (figure 35). Les résultats de 11 expériences figurent dans le tableau VII. En raison de la dispersion des valeurs de contenu quantique constatées en présence du Ringer de référence pour les expériences figurant dans le tableau VII, nous avons calculé la moyenne des rapports établis pour chaque expérience.

$$\frac{\text{contenu quantique moyen du p.p.m. (Rn + uranyle)}}{\text{contenu quantique moyen du p.p.m. (Rn de réf.)}}$$

La valeur moyenne de ce rapport est de $18 \pm 5,7$ (11 expériences), c'est à dire que le contenu quantique moyen a été multiplié par 18 lorsque l'uranyle a été ajouté au Ringer de référence. On ne constate pas de diminution du contenu quantique moyen lorsque l'action de l'uranyle est prolongée. Par contre une augmentation de l'amplitude des p.p.m. unitaires est décelable.



- Figure 35 -

Diminution réversible du nombre d'échecs à la transmission en présence d'uranyle (0,2 mM). Jonction neuro-musculaire bloquée par défaut de calcium (0,5 mM) et addition de magnésium (5 mM) dans le Ringer.

A : Ringer de référence ; B : Ringer + UO_2 ; C : retour aux conditions initiales.

TABLEAU VII

ACTION DE L' UO_2 (0,2 mM) SUR LE CONTENU QUANTIQUE MOYEN DU P.P.M.

Ringer	Ringer + UO_2 0,2mM	Ringer	Rapport $\frac{2b}{a+c}$
a	b	c	
0,37	2,3	0,4	5,97
0,67	3,75	0,5	6,41
0,79	5,4	0,59	7,82
1,01	7,5	1,12	7,04
0,72	6,5	0,67	9,35
0,22	2,66	0,10	16,62
0,50	10	0,72	16,60
0,82	3,9	0,56	5,49
0,015	1,035	0,015	69
0,115	2,46	0,11	22
0,08	1,72	0,025	32,75
Moyenne			18
Erreur standard			$\pm 5,7$

TABLEAU VIII

ACTION DE L'URANYLE SUR LE CONTENU QUANTIQUE MOYEN
DU POTENTIEL DE PLAQUE MOTRICE EN FONCTION DE LA
CONCENTRATION EN SODIUM DANS LE RINGER.

Chacune des trois expériences a été réalisée sur
une même cellule.

Na 100%			Na 60%					
a	b	c	d	e	f	g	h	
Rn	Rn + UO ₂	Rn	Rn	Rn + UO ₂	Rn	$\frac{2b}{a+c}$	$\frac{2e}{d+f}$	$\frac{g}{h}$
0,01	1,035	0,015	0,08	1,45	0,05	69	18	3,80
0,11	2,46	0,11	0,43	1,50	0,44	22	3,40	6,40
0,08	1,72	0,025	0,14	1,40	0,25	32	10	3,20
							Moyenne	4,40
							Erreur standard	$\pm 1,25$

L'augmentation du contenu quantique moyen du p.p.m. sous l'action de l'uranyle dépend de la concentration du sodium dans le Ringer. Dans le tableau VIII figurent les résultats de 3 expériences. Au cours de chacune d'elles nous avons étudié, sur une même plaque motrice, les effets de l'uranyle sur le contenu quantique du p.p.m. en présence de deux concentrations différentes de sodium : la concentration normale (112 mM) et une concentration égale à 60% de la concentration normale (67 mM) ; dans ce cas du saccharose est ajouté au Ringer pour maintenir constante la pression osmotique. A la lecture du tableau on constate que :

- le contenu quantique moyen du p.p.m. est toujours plus élevé dans le Ringer appauvri en sodium que dans le Ringer normal,

- l'addition d'uranyle entraîne une augmentation du contenu quantique moyen du p.p.m. en présence des deux concentrations de sodium utilisées,

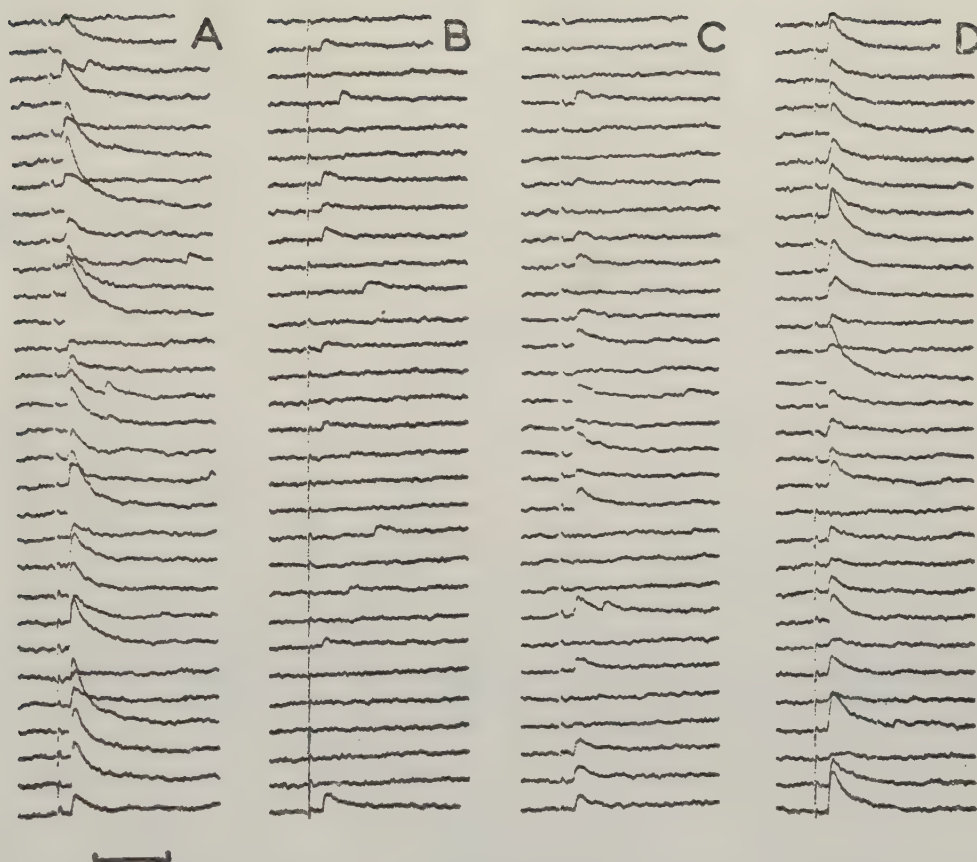
- l'augmentation du contenu quantique du p.p.m. par l'uranyle est moins importante dans le Ringer appauvri en sodium.

2° - Action du nickel.

En présence de nickel 0,5 mM le nombre des échecs à la libération du médiateur est augmenté. Les résultats de 9 expériences sont présentées dans le tableau IX. Au cours de ces expériences nous avons constaté une diminution de $96 \pm 1,7\%$ du contenu quantique moyen du p.p.m. (figure 36).

Le retour du contenu quantique à sa valeur initiale est obtenu progressivement au cours du rinçage et on ne constate alors pas les phénomènes d'augmentation observés à la jonction bloquée par le curare (figure 37).

MILEDI (1966) a brièvement signalé que le nickel,

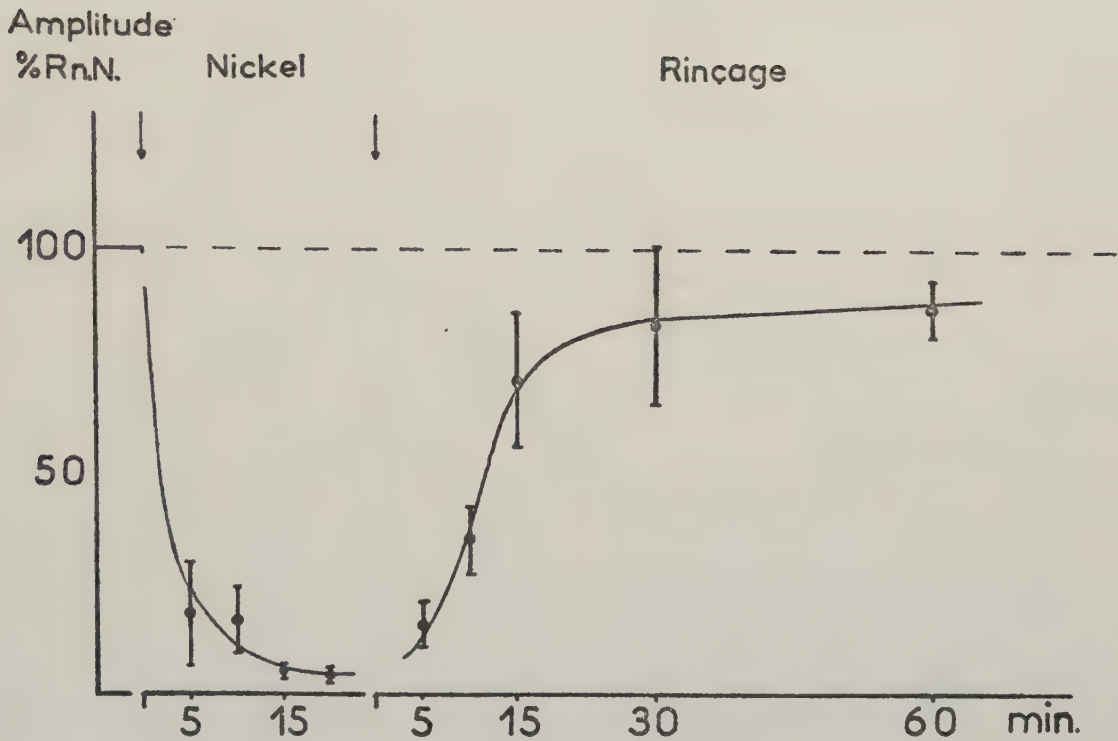


- Figure 36 -

Augmentation réversible du nombre d'échecs à la transmission en présence de nickel (0,5 mM). Jonction neuro-musculaire bloquée par défaut de calcium (0,5 mM) et addition de magnésium (5 mM) dans le Ringer.

A : Ringer de référence ; B : Ringer + nickel ; C : retour aux conditions initiales (10 minutes) ; D : retour aux conditions initiales (30 minutes).

Tarage de temps : 20 ms.



- Figure 37 -

Variations relatives de l'amplitude moyenne du p.p.m. sous l'action du nickel (0,5 mM). Transmission bloquée par défaut de calcium (0,5 mM) et addition de magnésium (0,5 mM) dans le Ringer. En abscisses a été porté le temps écoulé depuis le début de chaque changement de solution. Les traits verticaux représentent la valeur de l'erreur standard de la moyenne pour les 11 expériences.

TABLEAU IX

ACTION DU NICKEL (0,5 mM) SUR LE CONTENU QUANTIQUE MOYEN
DU POTENTIEL DE PLAQUE MOTRICE

a	b	c	$\frac{2b}{a+c}$
Ringer	Ringer + nickel	Ringer	
3,20	0,20	3,20	0,06
4,60	0,15	4,60	0,03
4,60	0,08	3,20	0,02
3,20	0,15	2,10	0,05
2,10	0,10	1,75	0,05
1,60	0,03	1,50	0,02
1,25	0,03	1,50	0,02
4,60	0,35	3,20	0,09
2,80	0,16	2,30	0,06
Moyenne			0,04
Erreur standard			$\pm 0,80$

comme d'ailleurs le zinc,"inhibent la libération du transmetteur en présence d'une concentration en calcium normale". Nos résultats confirment ces données en les précisant.

3° - Action du zinc.

En présence de zinc 0,1 mM le contenu quantique moyen du p.p.m. est diminué de 66%. Au cours du rinçage le retour à l'amplitude initiale est obtenu rapidement. On observe ensuite une augmentation progressive du contenu quantique qui persiste malgré le rinçage. Les résultats de 6 expériences figurent dans le tableau X .

4° - Action du TEA.

En présence de TEA (0,2 mM) nous avons constaté une diminution importante du nombre d'échecs à la transmission ainsi qu'une nette diminution de l'amplitude des p.p.m. unitaires d'origine certainement postsynaptique. Pour cette concentration de TEA, le contenu quantique moyen a été multiplié par 6,6.

DISCUSSION ET CONCLUSION.

Le contenu quantique moyen du p.p.m. est toujours augmenté dans des proportions importantes en présence d'uranyle et de TEA . Il est diminué en présence de nickel et de zinc. Ces variations du contenu quantique moyen du p.p.m. permettent d'expliquer les variations d'amplitude du p.p.m. à la jonction curarisée. Nous avons cependant constaté quelques effets postsynaptiques en présence d'uranyle et de TEA; c'est ainsi que l'amplitude des p.p.m. est légèrement augmentée en présence d'uranyle (0,2 mM), tandis qu'elle est diminuée en présence de TEA. Ces variations

TABLEAU X

ACTION DU ZINC (0,1 mM) SUR LE CONTENU QUANTIQUE
MOYEN DU POTENTIEL DE PLAQUE MOTRICE.

	Ringer	Ringer + zinc (10')	Ringer		
			(7')	(20')	(35')
	0,90	0,27	0,80	0,80	1,55
	1,16	0,60	2,20	2,13	3,90
	0,60	0,15	0,85	0,80	-
	0,50	0,38	0,25	-	-
	0,50	0,25	0,75	1,16	1,41
	0,80	0,35	1,45	1,45	1,55
Moyenne	0,74	0,33	1,05	1,26	2,10
Erreur standard	$\pm 0,10$	$\pm 0,06$	$\pm 0,27$	$\pm 0,24$	$\pm 0,60$

d'amplitude sont cependant négligeables vis à vis de l'augmentation importante du contenu quantique moyen du p.p.m.. Les effets post-synaptiques de l'uranyle et du TEA seront étudiés dans le dernier chapitre de ce travail.

Au cours de ces expériences sur la variation du contenu quantique moyen du p.p.m. en présence d'uranyle et de nickel, nous n'avons pas constaté certains phénomènes observés à la jonction curarisée. En effet le contenu quantique moyen du p.p.m. n'a pas été diminué par l'action prolongée de l'uranyle et il n'a pas été augmenté au cours du rinçage après l'action du nickel. Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer les phénomènes observés lorsque l'action de l'uranyle est prolongée à la jonction curarisée. L'augmentation de la quantité de médiateur libéré observée en présence d'uranyle peut entraîner une déplétion accélérée de la réserve d'acétylcholine immédiatement disponible dans la terminaison nerveuse. Nous verrons à propos de la libération spontanée de médiateur que l'uranyle augmente la fréquence des potentiels de plaque motrice miniatures : une telle augmentation peut aussi contribuer à accélérer la déplétion de la réserve présynaptique d'acétylcholine (DEL CASTILLO et KATZ, 1954d).

L'augmentation d'amplitude du p.p.m. à la jonction curarisée observée au cours du rinçage après l'action du nickel peut être expliquée par une augmentation du contenu quantique du p.p.m. due à une réplétion de la réserve présynaptique d'acétylcholine immédiatement disponible, pendant l'inhibition due au nickel. Dans le cas d'un blocage présynaptique poussé, les phénomènes de déplétion de la réserve d'acétylcholine n'ayant pas lieu, on n'observe pas de libération accrue d'acétylcholine pendant le rinçage qui suit l'action du nickel.

Les modifications importantes du contenu quantique moyen du p.p.m. en présence de TEA et d'uranyle peuvent être

expliquées par l'allongement de la durée du potentiel d'action. On sait en effet que l'allongement de la durée de la dépolarisation imposée à une terminaison nerveuse entraîne, non seulement une modification du décours temporel de la libération de médiateur mais encore une augmentation de la quantité de médiateur libéré (KATZ et MILEDI, 1967 c). Cependant un effet particulier de l'uranyle sur la quantité de médiateur libéré pour une durée de dépolarisation donnée ne peut être exclue. C'est ce que suggèrent les variations de l'accroissement de la quantité de médiateur libéré par le potentiel d'action présynaptique en présence d'uranyle pour des concentrations différentes de sodium dans le Ringer. Les résultats de ces expériences permettent en effet de penser que l'uranyle interviendrait dans la compétition entre le sodium et le calcium au niveau de la terminaison nerveuse (KELLY, 1965) ; COLOMO et RAHAMIMOFF, 1968;). Dans ce cas l'uranyle aurait pour effet de favoriser la fixation du calcium aux dépens du sodium sur la terminaison nerveuse.

Le nickel et le zinc n'ont pas les mêmes effets que l'uranyle et le TEA sur la libération évoquée du médiateur. La diminution du contenu quantique observée en présence de nickel et de zinc peut s'expliquer si l'on admet un effet inhibiteur de ces ions sur la libération du médiateur, se superposant à l'effet facilitateur que constitue l'augmentation de durée du potentiel d'action présynaptique.

III - MODIFICATION DE LA RELATION ENTRE LA QUANTITE DE MEDIEUR LIBERE PAR LE POTENTIEL D'ACTION ET LA CONCENTRATION EXTERIEURE EN CALCIUM.

L'action des ions calcium sur la libération du médiateur à la jonction neuro-musculaire du batracien se situe au niveau de la membrane de la terminaison nerveuse (KATZ et MILEDI, 1965 c).

DEL CASTILLO et KATZ (1954a) ont émis l'hypothèse que l'action du calcium pouvait être due à la combinaison réversible de cet ion avec des sites récepteurs X en un complexe CaX, préalable indispensable à la libération du médiateur.

JENKINSON (1957) puis DODGE et RAHAMIMOFF (1967) ont étudié la relation existant entre le nombre de quanta de médiateur libéré et la concentration en calcium du milieu extérieur. Ces auteurs ont montré que la quantité de médiateur libéré par l'influx n'est pas simplement proportionnelle à la concentration en calcium mais que la coopération de 4 ions Ca^{++} ou 4 molécules CaX est nécessaire à un certain moment au cours des étapes successives conduisant à la libération d'un quantum de médiateur. D'après cette théorie, la courbe exprimant la relation entre le logarithme du contenu quantique moyen du p.p.m. et le logarithme de la concentration en calcium dans le milieu extérieur est une droite dans sa portion initiale c'est à dire pour les faibles concentrations en calcium. En fait, la relation expérimentale est bien une droite, de pente comprise en 3 et 4, et généralement voisine de 4.

Cette courbe est déplacée parallèlement à elle-même sans modification de sa pente lorsque du magnésium est ajouté au Ringer ou lorsque la concentration en sodium du milieu extérieur est modifiée. La coopération de 4 ions calcium ou de 4 molécules de CaX reste donc nécessaire à la libération d'un quantum de médiateur lorsque le contenu quantique est modifié par des variations de la concentration en magnésium ou en sodium dans le milieu extérieur.

Dans le chapitre précédent nous avons mis en évidence les effets importants et opposés de l'uranyle et du nickel sur la quantité de médiateur libéré par l'influx nerveux. De tels effets pouvant être attribués à une modification du nombre d'ions

calcium nécessaires à la libération d'un quantum de médiateur. Nous avons recherché une éventuelle modification par l'uranyle et le nickel de la pente de la portion initiale de la courbe établie en coordonnées logarithmiques exprimant la relation entre la quantité de médiateur libéré et la concentration en calcium.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

La préparation est placée dans un Ringer dépourvu de calcium auquel on a ajouté du magnésium à la concentration de 5 mM.

Du calcium est ajouté à ce Ringer de façon à obtenir des concentrations en calcium comprises entre 0,3 mM et 0,8 mM. Pour ces concentrations le contenu quantique moyen reste faible et dans ces conditions la portion initiale de la courbe définie ci-dessus est une droite.

Le contenu quantique moyen est mesuré pour chaque concentration de calcium avant, pendant et après l'action de l'ion étudié.

La concentration d'uranyle utilisée était de 0,15 mM, celle du nickel de 0,2 mM.

Une microélectrode intracellulaire était piquée au niveau d'une jonction neuro-musculaire présentant une forte proportion d'échecs à la transmission. Dans ces conditions le contenu quantique moyen du p.p.m. a toujours pu être déterminé à partir du nombre d'échecs à la libération du médiateur. Cette méthode a permis d'éviter les corrections d'amplitude nécessitées par la sommation non linéaire des amplitudes des p.p.m. unitaires (MARTIN, 1955).

Pour chaque série de mesures la microélectrode est

restée en place dans la même fibre pendant plusieurs heures.

Une courbe en coordonnées linéaires et en coordonnées logarithmiques a été établie pour chaque série de mesures.

RESULTATS.

Les courbes en coordonnées linéaires et en coordonnées logarithmiques du contenu quantique moyen m du p.p.m. en fonction de la concentration en calcium sont présentées dans les figures 38 et 39.

1°- Action de l'uranyle.

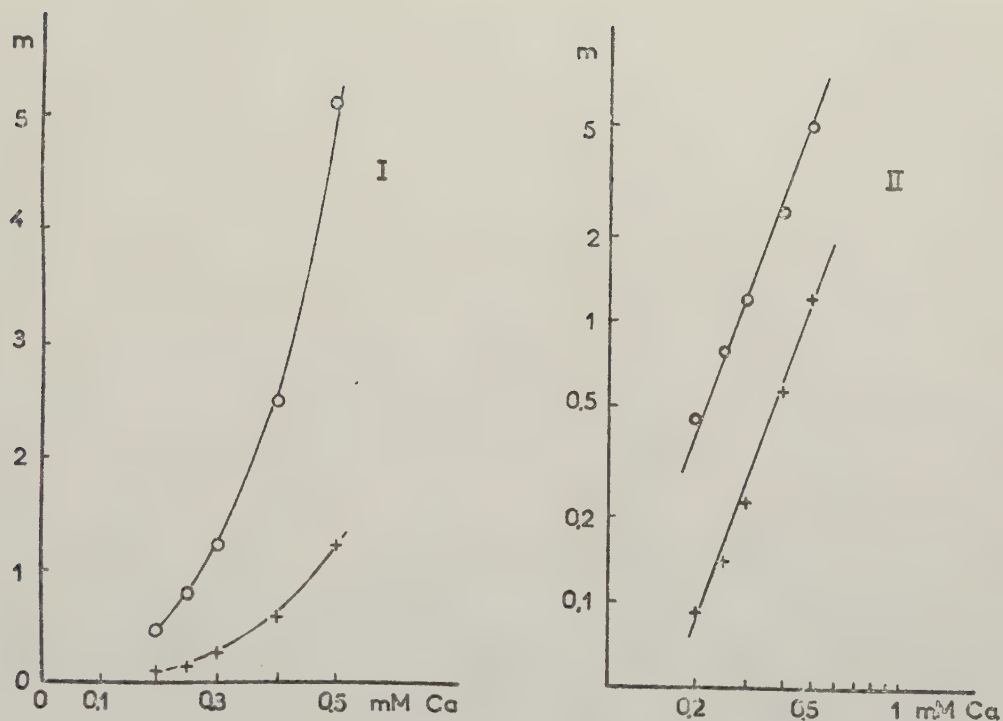
En présence d'uranyle 0,15 mM le contenu quantique moyen du p.p.m. a été augmenté pour chaque concentration de calcium étudié. La courbe en coordonnées logarithmiques a été déplacée parallèlement à elle-même, sa pente n'ayant pas varié (figure 38).

2°- Action du nickel.

En présence de nickel 0,2 mM le contenu quantique moyen du p.p.m. a été diminué pour chaque concentration de calcium étudiée. Mais la courbe en coordonnées logarithmiques a été encore déplacée parallèlement à elle-même, sans que sa pente ait varié (figure 39).

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'absence de modification de la pente de la droite obtenue en coordonnées logarithmiques en présence des ions étudiés indique que la coopération de 4 ions calcium reste nécessaire à la libération d'un quantum de médiateur.

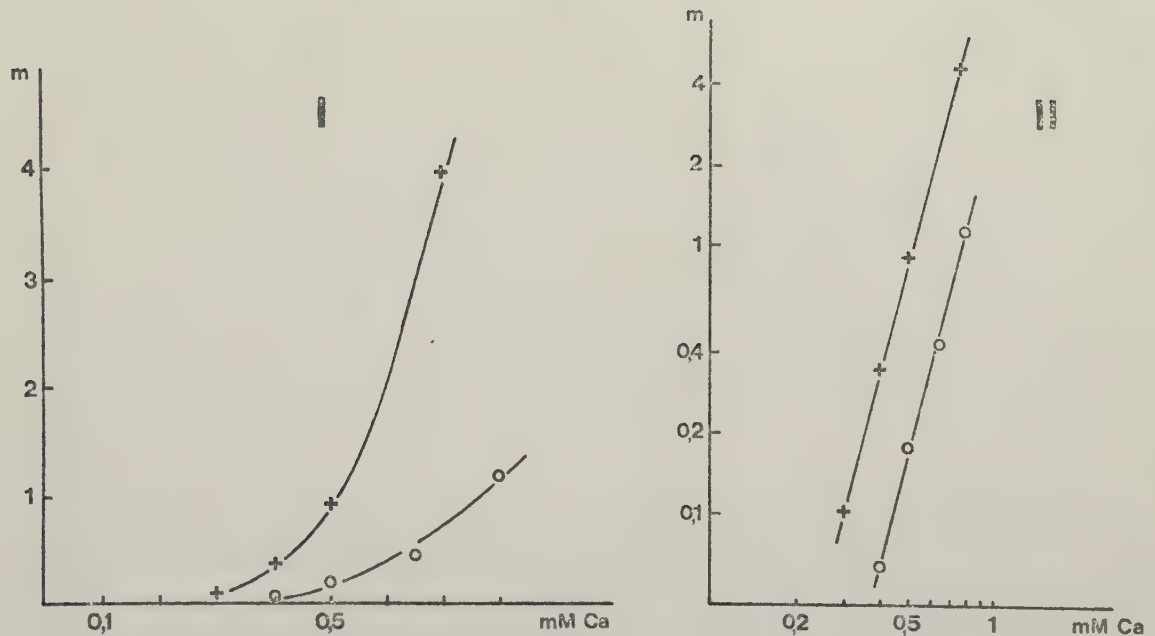


- Figure 38 -

Effet de l'uranyle sur la relation entre le contenu quantique moyen du p.p.m. et la concentration en calcium dans le Ringer. Tous les points ont été obtenus à partir de la même jonction neuro-musculaire. Le Ringer contenait 5 mM de magnésium et différentes concentrations de calcium.

(+) : Ringer ; (O) : Ringer + UO₂.

Courbe I : coordonnées linéaires ; Courbe II : coordonnées logarithmiques.



- Figure 39 -

Effet du nickel sur la relation entre le contenu quantique moyen^m du p.p.m. et la concentration en calcium dans le Ringer. Toutes les mesures ont été faites à partir de la même jonction neuro-musculaire. Le Ringer contenait 5 mM de magnésium et différentes concentrations de calcium. Pour chaque concentration de calcium, "m" était déterminé avant et après l'action du nickel.

(+) : Ringer ; (O) : Ringer + nickel (0,2 mM).

Courbe I : coordonnées linéaires ; courbe II : coordonnées logarithmiques.

L'effet inhibiteur du nickel sur la libération du médiateur, déjà mis en évidence dans le chapitre précédent, ne peut donc être attribué à une modification du nombre d'ions calcium dont la coopération est nécessaire à la libération d'un quantum de médiateur. Cet effet inhibiteur du nickel peut être par contre comparé à l'effet inhibiteur du magnésium étudié dans les mêmes conditions expérimentales par DODGE et RAHAMIMOFF(1967). L'action inhibitrice du nickel sur la libération du médiateur peut être attribuée à une compétition entre les ions calcium et nickel pour les mêmes sites présynaptiques, le nickel étant incapable de jouer le rôle du calcium dans la libération du médiateur.

Le déplacement de la courbe en présence d'uranyle pourrait être expliqué simplement par l'augmentation de m due à l'allongement de la durée du potentiel d'action présynaptique. Toutefois la suite de notre travail met en évidence une action spécifique facilitatrice de l'uranyle sur la libération du médiateur, cet ion n'étant pas, semble-t-il, capable de jouer le rôle du calcium dans la libération du médiateur (figure 21).

B - LIBERATION DU MEDiateur EN L'ABSENCE DE POTENTIEL D'ACTION PRESYNAPTIQUE.

La fréquence des p.p.m.m. varie considérablement avec le niveau de dépolarisation de la membrane présynaptique comme l'ont montré les expériences de dépolarisation électrotonique de la terminaison (DEL CASTILLO et KATZ, 1954c ; KATZ et MILEDI, 1967c) ou les expériences de dépolarisation de la terminaison par le KCl (LILEY, 1956 ; TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1961 ; GAGE et QUASTEL, 1966). L'augmentation de la quantité de médiateur libéré spontanément constatée à la jonction dépolarisée

par le KCl peut être considérée comme une image approximative de l'accroissement de la quantité de médiateur par l'arrivée du potentiel d'action dans la terminaison nerveuse. En effet le calcium et le magnésium par exemple modifient de la même manière la quantité de médiateur libéré.

Les modifications de la libération spontanée du médiateur par l'uranyle, le nickel, le zinc et le TEA ont été étudiées en prenant comme critère les variations de fréquence des potentiels de plaque motrice miniatures. Ces variations ont été étudiées sur des jonctions normales ou dépolarisées par l'addition de KCl au Ringer (LILEY, 1956 ; TAKEUCHI et TAKEUCHI, 1961).

PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

Les potentiels de plaque motrice miniature (ppmm) ont été recueilli à l'aide d'une microélectrode intracellulaire piquée dans la fibre musculaire au niveau de la plaque motrice.

De la prostigmine (1 microgramme par millilitre) était généralement ajoutée au Ringer pour augmenter l'amplitude des p.p.m.m. et faciliter ainsi leur observation.

L'expérience n'était entreprise que si la fréquence des p.p.m.m. était stable pendant une quinzaine de minutes au moins et ne présentait pas d'activité paroxystique caractérisée par une augmentation soudaine et transitoire de la fréquence des p.p.m.m. Une telle activité est généralement considérée en effet comme l'indice d'une altération de la terminaison nerveuse (FATT et KATZ, 1952).

Les p.p.m.m. étaient enregistrés pendant plusieurs minutes en présence de Ringer de référence (Ringer ou Ringer additionné de KCl), puis après addition de l'ion étudié, et enfin après retour aux conditions initiales.

RESULTATS

1°- Action de l'uranyle sur la fréquence des p.p.m.m.

a/- A la jonction non dépolarisée.

En présence d'uranyle 0,2 mM la fréquence des p.p.m.m. est multipliée par $17,9 \pm 2$ (e.s. ; moyenne de 6 expériences). Cette augmentation de fréquence dépend étroitement de la concentration en calcium et en magnésium dans le Ringer.

Les courbes I et II (figure 40) expriment la variation de l'augmentation de fréquence des p.p.m.m. sous l'action de l'uranyle 0,2 mM en fonction de la concentration en calcium ou en magnésium dans le Ringer. Elles montrent que les effets de l'uranyle sur la fréquence des p.p.m.m. diminuent lorsque la concentration en cations divalents (calcium ou magnésium) augmente.

La variation de fréquence des miniatures sous l'action de l'uranyle dépend aussi de la concentration du Ringer en sodium. Dans le tableau XI figurent les résultats de 7 expériences. Au cours de chacune d'elles nous avons étudié sur une même plaque motrice les effets de l'uranyle sur la fréquence des p.p.m.m. en présence de deux concentrations de sodium, la concentration normale (112 mM) et une concentration égale à 60% de la concentration normale (67 mM) ; dans ce dernier cas, du saccharose est ajouté au Ringer pour maintenir constante la valeur de la pression osmotique. A la lecture de ce tableau on constate que :

- la fréquence des p.p.m.m. est toujours plus élevée dans le Ringer appauvri en sodium que dans le Ringer normal,

- l'addition d'uranyle entraîne une augmentation des p.p.m.m. en présence des deux concentrations de sodium utilisées,

- l'augmentation de fréquence des p.p.m.m. par l'uranyle est moins importante en présence du Ringer appauvri en sodium,

- ce dernier phénomène se manifeste quelle que soit la concentration en cations divalents (calcium et magnésium) dans le Ringer.

b/- A la jonction dépolarisée.

i) Dépolarisation par le KCl.

La fréquence des p.p.m.m. est considérablement augmentée par l'uranyle (0,2 mM) lorsque la jonction neuro-musculaire est dépolarisée par addition de KCl (10 mM) au Ringer. Les p.p.m.m. ne peuvent plus être distingués les uns des autres.

ii) Dépolarisation par une impulsion de courant.

Par une méthode différente nous avons obtenu des résultats analogues sur une jonction neuro-musculaire bloquée par la tétrodontoxine. La terminaison était dépolarisée localement à l'aide d'une électrode extracellulaire parcourue par un courant de durée constante et de sens et d'intensité convenable (KATZ et MILEDI, 1967c). Dans ces conditions la dépolarisation provoque la libération de quanta de médiateur. En présence d'uranyle 0,2 mM la quantité de médiateur libéré par la dépolarisation présynaptique est considérablement augmentée (figure 41).

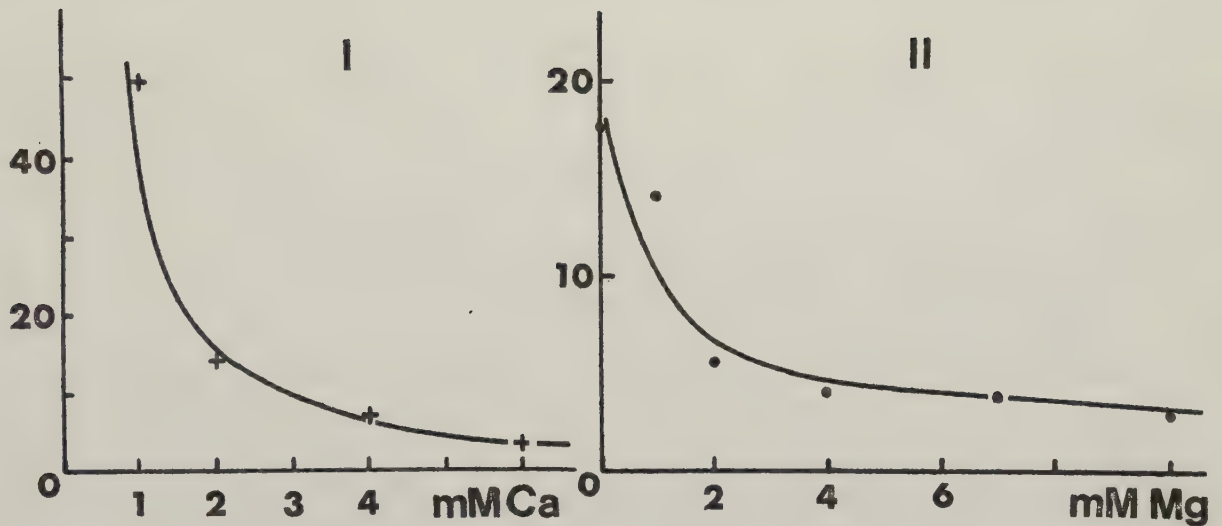
Les résultats obtenus par cette technique ne peuvent toutefois être acceptés sans réserve, le niveau réel de dépolarisation de la membrane présynaptique ne pouvant être contrôlé dans le cas de la jonction neuro-musculaire de Vertébré. On peut admettre ^{en effet} que le niveau de dépolarisation présynaptique soit

modifié par une variation éventuelle de la résistance de la membrane présynaptique en présence d'uranyle.

2°- Action du nickel sur la fréquence des p.p.m.m.

a/- A la jonction non dépolarisée.

La fréquence des p.p.m.m. n'est pas affectée de fa-



- Figure 40 -

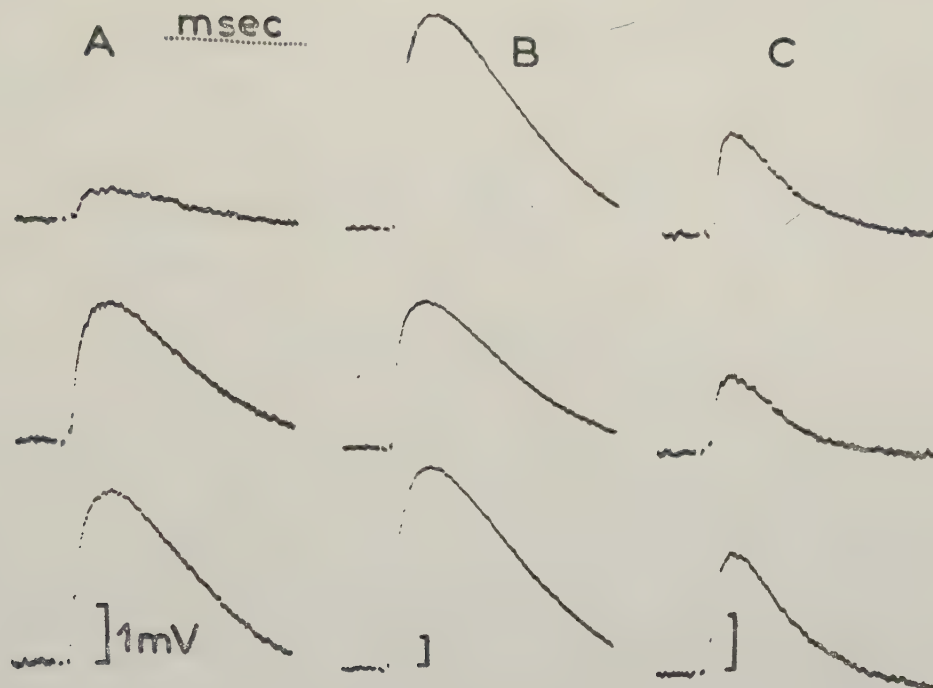
Modification de la fréquence des potentiels de plaque motrice miniatures en présence d'uranyle (0,2 mM). Etude du phénomène en fonction de la concentration en ions divalents dans le Ringer. Ordonnées : rapport de la fréquence moyenne des p.p.m.m. en présence d'uranyle, à la fréquence mesurée dans le Ringer sans uranyle, calculé pour chaque concentration en calcium. Courbe I: variations des effets de l'uranyle en fonction de la concentration en calcium dans le Ringer. Courbe II: variations des effets de l'uranyle en fonction de la concentration en magnésium dans le Ringer. La courbe II a été établie en présence de Ringer contenant du calcium (2mM). Ces deux expériences ont été réalisées sur la même jonction neuro-musculaire.

TABLEAU XI

ACTION DE L'URANYLE SUR LA FREQUENCE DES POTENTIELS DE PLAQUE MOTRICE
MINIATURE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN SODIUM DANS LE RINGER

Fréquence exprimée en nombre de potentiels de plaque motrice miniature
par minute

		a	b	c	d	
		Rn	Rn + UO ₂	Rn	$\frac{2b}{a+c}$	$\frac{d \text{ (Na 100\%)}}{d \text{ (Na 60\%)}}$
Ca 2 mM	Na 100%	56	856	52	15,8	1,38
	Na 60%	98	988	75	11,4	
	Na 100%	54	1200	54	22	1,57
	Na 60%	98	1148	66	14	
	Na 100%	24	478	25	19,5	1,95
	Na 60%	32	300	27	10	
Ca 4 mM	Na 100%	101	816	132	7	1,40
	Na 60%	109	560	110	5	
	Na 100%	84	359	84	4,22	1,93
	Na 60%	122	306	122	2,35	
	Na 100%	23	180	22	7,99	1,05
	Na 60%	35	253	32	7,55	
Ca 2 mM Mg 4 mM	Na 100%	90	924	68	11,5	1,23
	Na 60%	47	485	57	9,32	
					Moyenne	1,50
					Erreur standard ⁺	0,12



- Figure 41 -

Effet de l'uranyle sur la libération du médiateur par des dépolarisations électrotoniques, en présence de tétrodotoxine (0,1 $\mu\text{g/ml}$). Prostigmine (1 $\mu\text{g/ml}$). Température 20°C. Durées des impulsions dépolarisantes, 2 ms. A et C : Ringer de référence ; B : Ringer de référence + UO_2 (0,2 mM). Noter la diminution d'amplification en présence d'uranyle.

gon significative par l'addition de nickel (0,5 mM) au Ringer.

b/- A la jonction dépolarisée par addition de KCl (15 mM)
au Ringer.

La fréquence des p.p.m.m. est diminuée de $53\% \pm 7$ (c.s. ; 7 expériences) par le nickel lorsque du KCl (15 mM) est ajouté au Ringer.

3°- Action du zinc sur la fréquence des p.p.m.m.

En présence de zinc à la concentration de 0,1 ou de 0,2 mM, la fréquence des p.p.m.m. est d'abord peu affectée à la jonction non dépolarisée. Elle augmente ensuite progressivement et de façon irréversible, de ce fait une étude quantitative de l'action du zinc n'a pu être réalisée.

Lorsque la jonction est dépolarisée par l'augmentation de la concentration de KCl dans le Ringer nous avons pu constater une diminution de la fréquence des p.p.m.m. en présence de Zinc 0,2 mM. La fréquence augmente ensuite progressivement et de façon irréversible même après retour au Ringer de référence.

4°- Action du TEA sur la fréquence des p.p.m.m.

a/- A la jonction non dépolarisée.

En présence de TEA (0,3 mM), la fréquence des p.p.m.m. est légèrement diminuée. Cette fréquence qui était de $33,37 \pm 1,28$ (4 expériences) en Ringer normal n'est plus que de $29,5 \pm 2,58$ après addition de TEA. La diminution constatée est de 10% environ. Cette diminution de fréquence est accompagnée d'une diminution d'amplitude des p.p.m.m. qui peut être attribuée aux effets post-synaptiques de cette substance (KOKETSU, 1958).

b/- A la jonction dépolarisée par addition de KCl (10mM)
au Ringer.

Les variations de fréquence des p.p.m.m. en présence de TEA, à la jonction dépolarisée par le KCl n'ont pu être étudiées. En effet la diminution de l'amplitude des p.p.m.m. due à deux causes dont les effets s'ajoutent, la dépolarisation de la membrane musculaire par le KCl d'une part et l'action post-synaptique de type curarisant du TEA d'autre part, ne permet par une détermination correcte de la fréquence moyenne des p.p.m.m. en présence de TEA. En effet les potentiels miniatures de faible amplitude ne peuvent plus être distingués des fluctuations aléatoires du bruit de fond.

DISCUSSION ET CONCLUSION.

La fréquence des p.p.m.m. est affectée diversement par les agents capables d'augmenter la durée du potentiel d'action présynaptique.

- En présence d'uranyle la fréquence des p.p.m.m. est augmentée de façon importante aussi bien à la jonction non dépolarisée qu'à la jonction dépolarisée par le KCl.

On pourrait supposer que cette augmentation de fréquence est due à une dépolarisation de la terminaison nerveuse par l'uranyle. En fait il ne semble pas qu'une telle explication puisse être retenue, étant donné que nous n'avons jamais constaté de dépolarisation par l'uranyle ni dans le cas de la fibre nerveuse au noeud de Ranvier, ni dans celui de la fibre musculaire.

Nous avons montré que l'augmentation de fréquence des p.p.m.m. par l'uranyle dépend de la concentration en cations

divalents et de la concentration en sodium du Ringer. Les effets de l'uranyle sur la fréquence des p.p.m.m. sont d'autant plus importants que le Ringer est riche en sodium ou pauvre en cations divalents. Nous pouvons émettre l'hypothèse que c'est en réalité la valeur du rapport :

$$\frac{\text{concentration Na}^+}{\text{concentration cations divalents}}$$

qui détermine l'importance des effets de l'uranyle sur la fréquence des p.p.m.m. L'uranyle serait alors un agent intéressant pour l'étude des phénomènes de compétition ionique au niveau de l'élément présynaptique, phénomènes qui jouent un rôle important dans la libération du médiateur (KELLY, 1965 ; GAGE et QUASTEL, 1965, 1966 ; BIRKS et COHEN, 1968).

En conclusion nous pouvons considérer comme acquise l'action facilitatrice spécifique de l'uranyle sur la libération spontanée du médiateur.

- En présence de nickel la libération spontanée de médiateur n'est affectée que si la terminaison nerveuse est dépolarisée par le KCl. La diminution de fréquence observée pourrait être attribuée à une modification du niveau de dépolarisation de la terminaison nerveuse par le KCl. Cette explication ne paraît pas pouvoir être retenue. En effet MEVES (1963) a montré que l'amplitude de la dépolarisation du noeud de Ranvier obtenue par addition de KCl au Ringer n'est pas affectée par addition de nickel.

CHAPITRE IV

E F F E T S P O S T S Y N A P T I Q U E S

Au cours des chapitres précédents nous avons signalé des variations de l'amplitude des dépolarisations unitaires en présence des ions uranyle et TEA. Ces variations peuvent être considérées comme un bon indice de la modification de la sensibilité à l'acétylcholine de la membrane postsynaptique puisqu'il a été démontré que la quantité d'acétylcholine constituant le quantum est remarquablement constante (KATZ et THESLEFF, 1957a). Cette amplitude est toutefois modifiée lorsqu'une substance douée de propriétés curarisantes ou anticholinestérasiques est ajoutée au Ringer. Elle varie aussi lorsque la résistance de la membrane postsynaptique est modifiée expérimentalement.

Les propriétés curarisantes du TEA ont déjà été décrites par KOKETSU (1958) qui n'avait cependant pas étudié les modifications de l'amplitude des p.p.m.m. en fonction du TEA. Elles sont vraisemblablement attribuables au fait que le TEA est un ammonium quaternaire. Nous avons seulement précisé les effets de cette substance sur l'amplitude des p.p.m.m. pour nos besoins expérimentaux.

Les effets postsynaptiques de l'uranyle ont fait l'objet d'une étude plus poussée.

E F F E T S P O S T S Y N A P T I Q U E S D U T E A .

L'action du TEA sur l'amplitude des p.p.p.m. a été étudiée en utilisant le protocole expérimental ayant servi à

mettre en évidence les variations de fréquence des p.p.m.m. (chapitre III B). Trois concentrations différentes de TEA ont été utilisées : 0,1 , 0,3 et 0,5 mM. La courbe exprimant la relation existant entre l'amplitude des p.p.m.m. et la concentration en TEA (figure 42) illustre les effets curarisants de cette substance.

EFFETS POSTSYNAPTIQUES DE L'URANYLE.

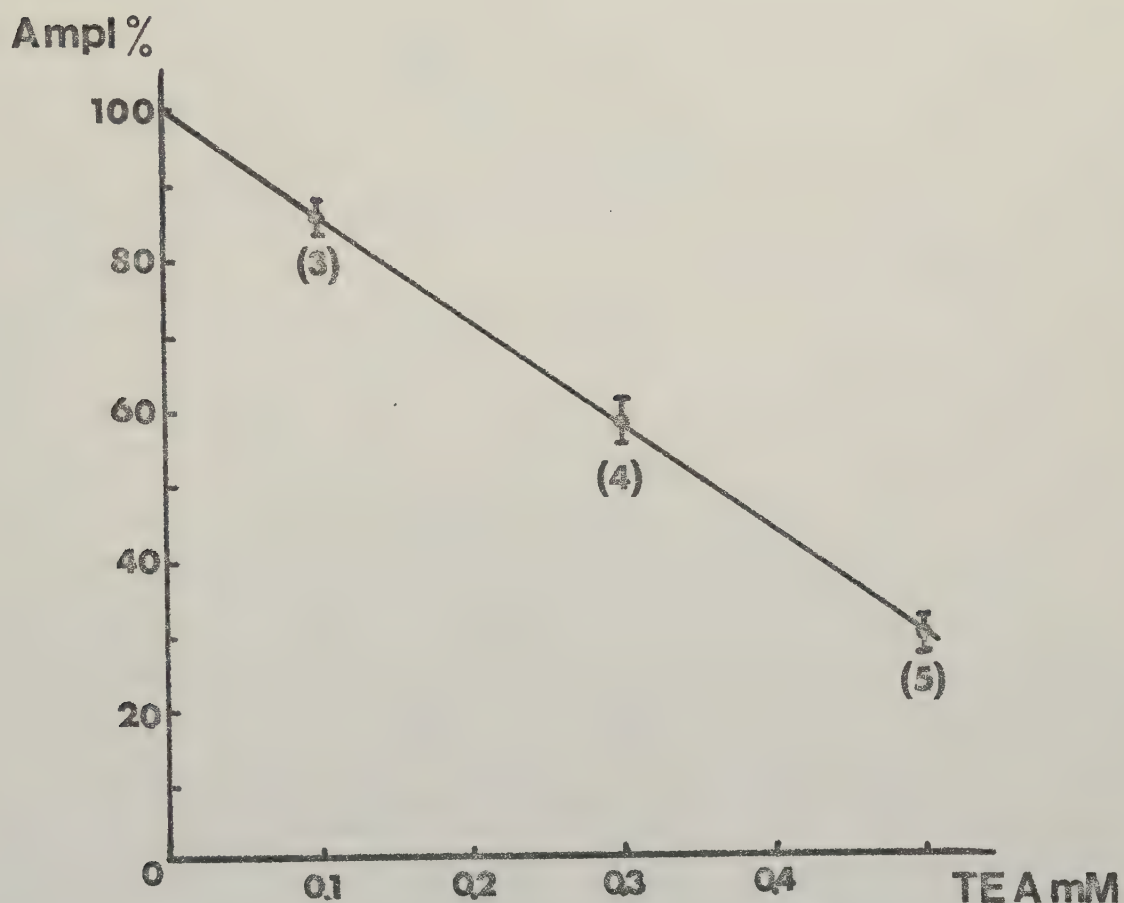
1°- Modification du décours temporel des p.p.m.m.

En présence d' UO_2 (0,2 mM) l'amplitude des p.p.m.m. a été augmentée de $22,5 \pm 2,7 \%$ (4 expériences) en l'absence de prostigmine et de $26,3 \pm 3 \%$ en présence de prostigmine.

La durée des p.p.m.m. mesurée à mi-amplitude est accrue de $49 \pm 5,9 \%$ (5 expériences) en l'absence de prostigmine et de $61 \pm 4,7 \%$ en présence de prostigmine.

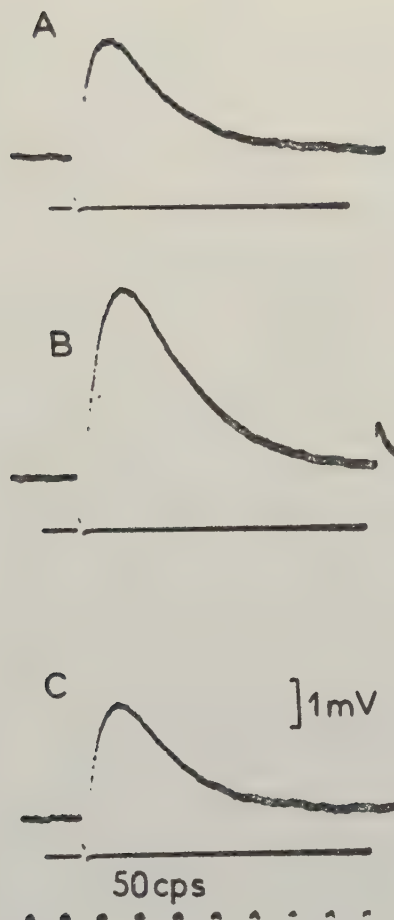
2°- Modification du décours temporel du potentiel d'acétylcholine.

Nous avons étudié les effets de l'uranyle sur l'amplitude et la durée du potentiel d'acétylcholine. Dans ce type d'expérience, les variations de potentiel de la membrane postsynaptique sont enregistrées à l'aide d'une microélectrode intracellulaire. Une microélectrode remplie d'une solution concentrée d'acétylcholine (voir techniques, p. 55) est parcourue par un courant bref de sens et d'intensité convenable. Elle permet d'appliquer en un point sensible (DEL CASTILLO et KATZ, 1955 a) de la surface de la plaque motrice des quantités constantes d'acétylcholine. Les potentiels d'acétylcholine ainsi obtenus sont enregistrés en milieu normal puis en présence de Ringer + uranyle. La figure (43) montre que l'amplitude et la durée de la dépolarisation par des quantités constantes d'acétylcholine sont



- Figure 42 -

Diminution d'amplitude des potentiels de plaque motrice miniature en fonction de la concentration en TEA dans le Ringer. En abscisses: concentration en TEA ; en ordonnées : amplitude des potentiels miniatures exprimée en % de l'amplitude en présence de Ringer normal. Les traits verticaux représentent l'erreur standard de la moyenne ; les chiffres entre parenthèses donnent le nombre d'expériences dans chaque cas.



- Figure 43 -

Modification de la sensibilité postsynaptique à l'acétylcholine en présence d'uranyle (0,2 mM).

Acétylcholine appliquée localement par ionophorèse.

A : Ringer.

B : Ringer + UO_2 (0,2 mM).

C : Ringer.

augmentées.

3°- Action de l'uranyle sur les caractéristiques électriques de la membrane musculaire.

Nous avons étudié les variations d'amplitude sous l'action de l'uranyle d'une hyperpolarisation de la membrane postsynaptique due au passage d'un courant constant hyperpolarisant à travers la membrane postsynaptique.

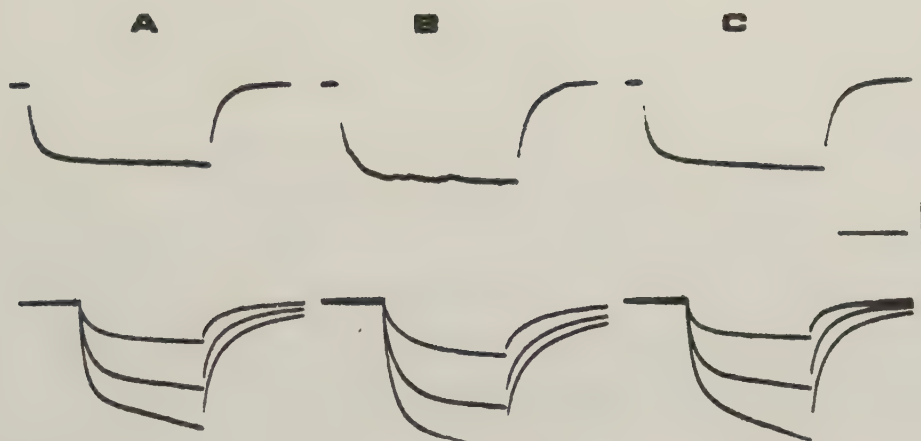
Une microélectrode d'enregistrement intracellulaire est insérée dans une fibre musculaire au niveau de la plaque motrice. Une deuxième microélectrode de résistance d'environ 5 mégohms est piquée dans la même fibre à moins de 50 μ de la microélectrode d'enregistrement. Cette microélectrode est connectée à un stimulateur débitant des impulsions rectangulaires à travers une résistance de 40 mégohms, ce qui réalise pratiquement les conditions d'un générateur de courant constant. Le circuit est fermé par l'intermédiaire d'une électrode indifférente plongée dans le Ringer de la cuve d'expérience.

L'hyperpolarisation de la membrane provoquée par un courant constant est augmentée en présence d' UO_2 (0,2 mM) d'environ 20% (figure 44). Une modification analogue est constatée lorsque les électrodes sont placées dans la fibre musculaire loin de la plaque motrice.

DISCUSSION ET CONCLUSION.

Les résultats expérimentaux précédents confirment les observations faites par KOKETSU (1958) à propos du TEA.

En présence d'uranyle nous avons constaté une augmentation d'amplitude des p.p.m.m. Cette augmentation persiste lorsque la cholinestérase est bloquée par addition de prostig-



- Figure 44 -

Modification des caractéristiques électriques de la membrane postsynaptique en présence d'uranyle (0,2 mM).

La membrane est hyperpolarisée par application d'une impulsion de courant constant à l'aide d'une microélectrode insérée dans la fibre musculaire à moins de 50 μ de l'électrode d'enregistrement intracellulaire.

A : Ringer ; B : Ringer + UO_2 (0,2mM) ; C : Ringer.

En haut : expérience faite dans la région synaptique.

En bas : expérience faite hors de la région synaptique.

Tarage d'amplitude : 10 mV en haut et 40 mV en bas.

Tarage de temps : 50 ms.

mine au Ringer, et elle est même légèrement accrue. Dans ce dernier cas l'accentuation apparente des effets postsynaptiques de l' UO_2 est probablement due à la plus grande précision des mesures ; le rapport signal/bruit de fond étant amélioré du fait de l'augmentation d'amplitude des p.p.m.m.

L'amplitude de la dépolarisation électrotonique imposée à la membrane par un courant constant est accrue en présence d'uranyle, ce qui indique une augmentation de la résistance effective de la membrane musculaire, due très probablement à une augmentation de sa résistance spécifique. Les enregistrements de la figure 44 montrent aussi un allongement de la constante de temps de la membrane.

Dans une recherche portant sur les modifications des constantes électriques passives de la membrane sous l'action de l'ion zinc, MASHIMA et WASHIO (1958) ont montré qu'à la concentration de 0,5 mM, cet ion doublait presque la résistance effective, et triplait la résistance spécifique sans que la capacité par unité de surface soit significativement altérée. Dans ces conditions la constante de temps de la membrane est plus que doublée. Il est vraisemblable que l'uranyle affecte les paramètres de la membrane du muscle de façon analogue.

Les changements observés sont donc de nature à expliquer, au moins partiellement, les variations d'amplitudes des dépolarisations dues à l'application de quantités constantes d'acétylcholine, ainsi que leurs modifications de durée, constatées sous l'action de l'uranyle.

Toutefois, le changement de résistance effective, tel qu'on peut l'estimer à partir de nos expériences, paraît trop peu important pour expliquer à lui seul certains de nos résultats, comme par exemple l'augmentation d'environ 50% de l'amplitude du potentiel d'acétylcholine illustrée par la figure 43. Des expériences où les variations de la résistance

effective et de la sensibilité à l'acétylcholine seraient étudiées sur la même fibre, permettraient seules de savoir si réellement l'amplitude des réponses reste proportionnelle à la résistance effective. S'il n'en était pas ainsi, on pourrait peut-être invoquer un changement du potentiel d'équilibre de la membrane subsynaptique activée par l'acétylcholine. Un tel changement, correspondant à un déplacement de ce potentiel d'équilibre dans la direction de E_{Na} , pourrait effectivement être prévu si l'uranyle diminuait la perméabilité au potassium de la membrane cholinocceptive comme il le fait pour la membrane excitable.

En résumé, les effets postsynaptiques étudiés peuvent être expliqués :

1° - Dans le cas de l'ion tétraéthyl-ammonium, par une action analogue à celle du curare.

2° - Dans le cas de l'ion uranyle, en grande partie au moins par une augmentation de la résistance de la membrane musculaire.

DISCUSSION GÉNÉRALE
ET CONCLUSIONS.

Les travaux récents de KATZ et MILEDI montrent que la durée d'une dépolarisation électrotonique de l'élément présynaptique conditionne à la fois la quantité de médiateur libéré et le décours temporel de la libération. Ces résultats ont été acquis sur des préparations rendues inexcitables par la tétrodo-toxine, aussi avons nous cherché tout d'abord si des phénomènes analogues ne pouvaient pas se produire lorsque l'augmentation de durée de la dépolarisation présynaptique était réalisée par un allongement du potentiel d'action. Nous avons utilisé dans ce but divers agents connus pour prolonger la durée du potentiel d'action du noeud de RANVIER, les ions nickel, zinc, uranyle et tétraéthyl-ammonium et, bien qu'il soit possible, comme on l'a fait parfois, de postuler que le potentiel d'action de la terminaison motrice subit des changements analogues à ceux du potentiel nodal, nous avons tenu à vérifier qu'il en était bien ainsi, par enregistrement focal de l'activité électrique présynaptique.

La similitude des effets de l'augmentation de durée du potentiel d'action présynaptique et de l'augmentation de durée de la dépolarisation électrotonique sur le décours temporel de la libération du médiateur que nous avons mis en évidence paraît de nature à prouver que, dans un cas comme dans l'autre, c'est le facteur durée de la dépolarisation et non la variation des perméabilités ioniques au cours du potentiel d'action présynaptique qui définit les caractéristiques temporelles de la libération du médiateur. En termes plus généraux, on peut dire que le premier stade des processus qui conditionnent, à partir de la dépolarisation membranaire, la libération du transmetteur est un

phénomène qui dépend de l'amplitude et de la durée de la dépolarisation présynaptique et non de la nature des courants ioniques qui provoquent cette dernière. En effet le décours temporel de la libération du médiateur semble être influencée de façon identique par la durée de la dépolarisation présynaptique, que la perméabilité sodique de la membrane soit bloquée par la tétródotoxine, que la perméabilité au potassium soit bloquée par le TEA, ou que le décours temporel des variations de P_K et de P_{Na} soit modifié sous l'action des cations divalents utilisés. Les modifications du potentiel d'action nerveux sous l'action du nickel, selon MEVES, sont dues à un retard à l'inactivation sodium et à l'activation potassium. Si les données expérimentales manquent en ce qui concerne l'explication des effets du zinc et de l'uranyle, il est vraisemblable que l'allongement du potentiel d'action nerveux provoqué par ces ions relève des mêmes causes que dans le cas du nickel.

Par ailleurs, les courants ioniques membranaires sont essentiellement différents, dans le cas d'une dépolarisation imposée, de ce qu'ils sont dans le cas d'un potentiel d'action.

Les remarquables expériences réalisées par KATZ et MILEDI sur la synapse géante de Calmar leur ont permis d'étayer leur conception selon laquelle une entrée de calcium ou d'un composé CaR^+ dans l'élément présynaptique constitue le préalable indispensable à la libération évoquée de médiateur. Dans cette hypothèse le maintien de la dépolarisation post-synaptique à un niveau élevé serait responsable de l'inhibition de l'entrée de calcium et la cause de la prolongation du délai synaptique constatée lorsque la durée de la dépolarisation présynaptique est augmentée.

Nos expériences, comme les expériences de dépolarisation imposées, réalisées par KATZ et MILEDI, peuvent être in-

interprété dans le cadre de cette hypothèse, qui se trouve ainsi corroborée. En effet, le décours temporel de la libération du médiateur, ainsi que nous l'avons fait remarquer, est influencée de la même façon lorsque la durée de la dépolarisation présynaptique est modifiée par des moyens très différents. Naturellement cette similitude d'effets ne peut être constatée que si les agents utilisés pour allonger le potentiel d'action présynaptique permettent la fixation du calcium sur des sites présynaptiques de nature inconnue, mais dont l'occupation par l'ion Ca^{++} ou un composé RCa^+ conditionnerait la pénétration du calcium à travers la membrane. Cette restriction doit être introduite en raison de l'existence d'effets dépressifs spécifiques sur la libération du transmetteur constatés dans le cas des ions Ni^{++} et Zn^{++} .

Si les effets des quatre agents étudiés sur le décours temporel de la libération du médiateur présentent une remarquable unité, il n'en est pas de même en ce qui concerne leur action sur la quantité de médiateur libéré par l'influx nerveux. Nous avons constaté en effet que le contenu quantique était considérablement diminué en présence de concentrations modérées de zinc et de nickel, tandis qu'il est augmenté en présence de TEA ou d'uranyle.

Le TEA nous a paru dépourvu d'effets spécifiques propres sur la libération du médiateur dans la mesure où ses propriétés curarisantes nous ont permis d'aborder ce problème. Dans le cas de cet ion il semble donc possible d'attribuer uniquement à ses effets sur la durée de la dépolarisation présynaptique l'augmentation du contenu quantique qu'il produit. On peut donc considérer ici qu'il existe une similitude complète entre les effets constatés à la suite de l'allongement de la dépolarisation électrotonique et ceux mis en évidence par augmentation de la durée du potentiel d'action présynaptique.

Il n'en est pas de même pour les autres agents nous ayant servi à modifier la durée du potentiel d'action présynaptique. L'inhibition spectaculaire de la libération du médiateur par le nickel et le zinc résulte bien de propriétés spécifiques de ces ions, que nous avons pu mettre en évidence dans des conditions où les effets facilitants de l'allongement du potentiel d'action présynaptiques sont absents. Le nickel et le zinc diminuent en effet la fréquence des potentiels miniatures, dans le cas d'une dépolarisation de la membrane présynaptique provoquée par le KCl.

Dans le cadre des conceptions théoriques de RAHAMIMOFF, nous avons pu montrer que l'inhibition de la libération du médiateur pouvait être attribuée à un mécanisme de compétition avec le calcium vis à vis des sites dont l'occupation par les ions Ca^{++} conditionnerait la libération d'acétylcholine.

Le déplacement de la courbe en coordonnées logarithmiques exprimant la relation entre la quantité de médiateur libéré et la concentration en calcium montre en effet que les propriétés inhibitrices du nickel peuvent être expliquées par une compétition entre cet ion et le calcium pour des sites présynaptiques X. Cette étude montre que l'addition de nickel au Ringer est l'équivalent d'une addition de magnésium dont les effets ont été décrits dans la littérature, mais probablement avec une efficacité plus importante pour le nickel. En effet dans la mesure où l'augmentation de durée du potentiel d'action présynaptique est de nature à faciliter la libération du médiateur et donc à compenser son effet inhibiteur, on peut considérer que cet effet inhibiteur est particulièrement important.

Dans le cas de l'uranyle, l'existence d'un effet facilitateur spécifique peut paraître moins évidente que celle des effets dépresseurs du nickel et du zinc. En effet, si par-

mi les quatre agents utilisés, l'uranyle est celui qui donne les augmentations les plus spectaculaires du contenu quantique, c'est aussi celui qui allonge le plus le potentiel d'action présynaptique dans les conditions de nos expériences. On pourrait ainsi être tenté d'expliquer cette augmentation sur la seule base de l'allongement du potentiel d'action présynaptique. L'effet spécifique facilitateur de l'uranyle est en tous cas, pensons-nous, démontré par l'aptitude de cet ion à augmenter la fréquence des potentiels miniatures, et aussi la quantité de médiateur libéré lors de l'application d'une impulsion de courant constante à la terminaison présynaptique rendue inexcitable par la tétródotoxine. Les effets facilitants de l'uranyle dépendent de la composition ionique du milieu extérieur, et particulièrement de sa concentration en sodium et en cations divalents (Ca^{++} et Mg^{++}). Pour l'uranyle il est encore possible de proposer une explication de l'effet spécifique facilitant sur la base de la théorie de RAHAMIMOFF. L'uranyle déplace vers les faibles concentrations en calcium la droite reliant le logarithme du contenu quantique au logarithme de la concentration en calcium, sans que sa pente, voisine de 4, soit modifiée. Si l'interprétation de RAHAMIMOFF est exacte, cela signifie que la fixation de quatre ions calcium au niveau d'un site présynaptique reste toujours, en présence d'uranyle, la condition nécessaire à l'émission d'un quantum de médiateur. Les effets de l'uranyle sur le contenu quantique peuvent être comparés à ceux d'un appauvrissement du milieu externe en sodium. On sait en effet qu'un tel appauvrissement conduit à une augmentation considérable du contenu quantique. D'autre part, en milieu pauvre en sodium, les effets facilitateurs de l'uranyle sont notablement diminués. On peut donc envisager que l'effet spécifique facilitateur de l'uranyle soit dû à une modification des affinités relatives des sites X pour

le sodium et le calcium. Par ailleurs, l'augmentation de la fréquence des miniatures sous l'action de l'uranyle est d'autant moins marquée que la concentration du milieu extérieur en cations divalents (Ca^{++} ou Mg^{++}) est plus élevée. Ainsi ces données pourraient conduire à supposer que l'uranyle agit en augmentant l'affinité des sites X pour le calcium aux dépens du sodium.

Quelle que soit la valeur qu'il convient d'attacher à ces spéculations, notre travail aboutit néanmoins à un résultat curieux et sans doute intéressant. L'ion uranyle est incapable, semble-t-il, de pallier par sa présence les effets du manque de calcium dans le milieu extérieur pour rétablir la libération évoquée du transmetteur abolie dans ces conditions. Mais en présence de calcium, et en dehors des effets de l'allongement du potentiel d'action présynaptique que l'uranyle provoque, cet ion facilite la libération évoquée d'acétylcholine dans des proportions considérables. Parmi les cations métalliques multivalents, il représente ainsi un cas unique. En effet, d'après les données de MILEDI (1966), si le strontium et le baryum peuvent se substituer au calcium pour permettre la libération de transmetteur à la jonction neuromusculaire de Grenouille et si de nombreux cations métalliques multivalents (MILEDI, 1966 ; MAMBRINI et BENOIT, 1967) dépriment la libération évoquée d'acétylcholine par la terminaison motrice, on n'a jamais mentionné jusqu'ici l'existence d'agents capables, en présence de calcium, d'augmenter la libération de transmetteur comme le fait l'uranyle. Certes, en présence de calcium, le baryum ou le strontium sont capables d'augmenter le contenu quantique, mais quantitativement parlant, cet effet est beaucoup plus faible que celui de l'uranyle. Sans doute l'étude d'ions trivalents comme le lanthane ou tétravalents comme le thallium, dont l'effet fa-

cilitant sur la libération d'acétylcholine en l'absence de calcium vient d'être décrit par BLIOCH et Coll. (1968), mériterait-elle d'être reprise à ce point de vue. L'uranyle paraît fournir en tous cas, un moyen d'étude intéressant des mécanismes qui précèdent la libération du transmetteur. Dans la mesure où l'interprétation de l'effet facilitateur spécifique de l'uranyle que nous avons tentée dans le cadre de la théorie de RAHAMIMOFF peut être considérée comme valable, l'augmentation postulée de l'affinité des sites X pour le calcium sous l'action de l'uranyle pourrait peut-être, à la limite, être utilisée pour préciser la configuration moléculaire de ces sites accepteurs de calcium, s'ils existent réellement.

Pour rester dans le domaine des données positives et des interprétations relativement immédiates, notre travail a, en définitive, permis essentiellement de montrer :

1°/ que le décours temporel de la libération du transmetteur est influencé de la même façon par un allongement de la durée de la dépolarisation présynaptique, que cette dernière soit réalisée artificiellement ou qu'elle résulte d'une prolongation du potentiel d'action nerveux. Ce résultat confirme les hypothèses récemment émises par KATZ et MILEDI sur les processus qui interviennent entre la dépolarisation de la membrane présynaptique et la libération du médiateur.

2°/ que l'ion uranyle exerce, indépendamment de l'allongement de la durée du potentiel d'action présynaptique qu'il provoque un effet spécifique facilitant sur la libération d'acétylcholine par la terminaison motrice et que cet effet, dont nous avons tenté de préciser les modalités et la nature, apparaît comme un exemple unique parmi les propriétés des cations divalents capables d'influencer la libération du transmetteur.

R E S U M E

Les effets des ions uranyle, tétraéthyl-ammonium (TEA), nickel et zinc sur la durée du potentiel d'action présynaptique et sur la libération du médiateur à la jonction neuro-musculaire de Grenouille ont été étudiés. Au cours de cette étude, nous avons constaté les effets suivants :

1°/ la durée du potentiel d'action présynaptique est augmentée par les ions UO_2^{++} , TEA^+ , Ni^{++} et Zn^{++} ,

2°/ le délai synaptique minimum, mesuré entre le potentiel d'action présynaptique et le début de la dépolarisation postsynaptique consécutive à la libération du médiateur, est augmenté ,

3°/ l'histogramme des délais synaptiques mesurés à la jonction bloquée par défaut de calcium et addition de magnésium au Ringer est plus étalé en présence des ions étudiés ,

4°/ malgré leurs effets semblables sur la durée du potentiel d'action présynaptique, la quantité de médiateur libéré après un potentiel d'action n'est pas modifiée de façon analogue en présence de ces ions : en effet la quantité de médiateur libéré est augmentée par l'uranyle et le TEA tandis qu'elle est diminuée par Ni^{++} et Zn^{++}

5°/ des effets spécifiques de UO_2^{++} , Ni^{++} , Zn^{++} sur la libération du médiateur sont décrits.

Les modifications du déroulement temporel de la libération du médiateur sont expliquées par les modifications de durée du potentiel d'action présynaptique mises en évidence. Les effets spécifiques des ions étudiés sur la libération du médiateur sont expliqués en termes de compétitions avec les ions calcium et sodium pour certains sites présynaptiques.

B I B L I O G R A P H I E

- ABDON, N.O. (1940) -
Acta Physiol.Scand., 1, p.153.
- ARMSTRONG, C.M. et BINSTOCK, L. (1965) - Anomalous rectification in the squid giant axon injected with tetraethyl-ammonium chloride.
J.Gen.Physiol., t.48, p.859.
- ARVANITAKI, A. (1942) - Effects evoked in an axon by the electric activity of a contiguous one.
J.Neurophysiol., t.5, p.89.
- AUERBACH, L. (1898) - Nervenendigung in den Centralorganen.
Neurol. Zbl., t.17, p.445.
- BACQ, Z.M. (1937) - L'acétylcholine et l'adrénaline. Leur rôle dans la transmission de l'influx nerveux.
Liège, Georges Thone édit., Bibl.Sci.Belge.
- BACQ, Z.M. et BROWN, G.L. (1937) - Pharmacological experiments on mammalian voluntary muscle in relation to the theory of chemical transmission.
J.of Physiol., t.89, p.45.
- BERNARD, C. (1856) - Analyse physiologique des propriétés des systèmes musculaire et nerveux au moyen du curare.
C.R.Acad.Sci., Paris t.43, p.825.
- BETHE, A. (1916) - Kapillarchemische (Kapillarelektische) vorgänge als grundlage einer allgemeinen Erregungstheorie.
Pflüg.Arch. t.163, p.147.
- BIRKS, R.I. (1963) - The role of sodium ions in the metabolism of acetylcholine.
Canad.J.Bioch.Physiol., t.41, p.2537.
- BIRKS, R. et COHEN, M.W. (1968) - The action of sodium pump inhibitors on neuro-muscular transmission.
Proc.Roy.Soc.B, t.170, p.381.
- BIRKS, R., HUXLEY, A.F. et KATZ, B. (1960) - The fine structure of the neuro-muscular junction of the frog.
J.of Physiol., t.150, p.134.
- BIRKS, R., KATZ, B. et MILEDI, R. (1960) - Physiological and structural changes at the Amphibian myoneural junction in the course of nerve degeneration.
J.of Physiol., t.150, p.145.

- BOLLY, M.H. et BACQ, Z.M. (1938) - Strychnine et contraction acétylcholinique.
C.R.Soc.Biol., t.77, p.1459.
- BOVET, D. et BOVET-NITTI, F. (1959) - Curare and curare-like agents.
Elsevier publishing company.
- BOYD, I.A. et MARTIN, A.R. (1956) - Spontaneous subthreshold activity at mammalian neuro-muscular junctions.
J.of Physiol., t.132, p.61.
- BREMER, F. (1930) - Contribution à l'étude du problème de la transmission neuro-musculaire.
Arch.Int.Pharm.Thér., t.38, p.300.
- BROWN, G.L. (1937) - Transmission at nerve endings by acetylcholine.
Physiol.Rev., t.17, p.485.
- BROWN, G.L., DALE, H.H. et FELDBERG, W. (1936) - Reactions of the normal mammalian muscle to acetylcholine and to eserine.
J. of Physiol., t.87, p.394.
- BROWN, G.L. et ECCLES, J.C. (1934) - The action of a single vagal volley on the rhythm of the heart beat.
J.of Physiol., t.82, p.211.
- BROWN, G.L. et FELDBERG, W. (1937) -
J.of Physiol., t.88, p.265.
- BUCHTAL, F. et LINDHARD, J. (1937) - Direct application of Ach to motor end plates of voluntary muscle fibres.
J.of Physiol., t.90, p.82.
- BULLOCK, T.H. (1948) - Properties of a single synapse in the stellate ganglion of squid.
J. Neurophysiol., t.11, p.343.
- BULLOCK, T.H. et HAGIWARA, S. (1957) - Intracellular recording from the giant synapse of the squid.
J.Gen.Physiol., t.40, p.565.
- BURNS, B.D. et PATON, N.D.M. (1951) - Dépolarisation of the motor end plate by decamethonium and acetylcholine.
J. of Physiol., t.115, p.41.
- CANNON, W.B. et BACQ, Z.M. (1931) - Studies on the conditions of activity in endocrine organs, XXVI. A hormone produced by sympathetic actionin smooth muscle.
Amer. J. Physiol., t.96, p.392.

- CANNON, W.B. et ROSENBLUETH, A. (1933) - Studies on conditions of activity in endocrine organs, XXIX. Sympathin E and Sympathin I.
Amer. J. Physiol., t.104, p. 557.
- CHEVAL, J. (1966) - Présentation de montages à semi conducteurs: sondes, amplificateurs, mégohmètres.
J. of Physiol., t.58, p.648.
- COLOMO, F. et RAHAMIMOFF, R. (1968) - Interaction between sodium and calcium ions in the process of transmitter release at the neuro-muscular junction.
J. of Physiol., t.198, p.203.
- COPPEE, G. (1943) - La transmission neuro-musculaire. Curarisation, décurarisation et renforcement à la jonction myo-neurale.
Arch. Internat. Physiol., t.53, p.329.
- COUTEAUX, R. (1942) - La cholinestérase des plaques motrices après section du nerf moteur.
Bull. Biol., t.76, p.14.
- COUTEAUX, R. (1946) - Sur les gouttières synaptiques du muscle strié.
C.R. Soc. Biol. (Paris), t.140, p.270.
- COUTEAUX, R. (1958) - Morphological and cytochemical observations on the post-synaptic membrane at motor end-plates and ganglionic synapses.
Exp. Cell. Res., suppl. 5, p.294.
- COUTEAUX, R. (1963) - The differentiation of synaptic areas.
Proc. Roy. Soc. B, t.158, p.457.
- COUTEAUX, R. et TAXI, J. (1952) - Recherches histochimiques sur la distribution des activités cholinestérasiques au niveau de la synapse myo-neurale.
Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exper., t.41, p.352.
- CREMER, M. (1909) -
Handb. d. Physiol. d. Menschen.
- DALE, H.H. (1914) - The action of certain esters and ethers of choline and their relation to muscarine.
J. Pharmacol. Exp. Ther., t.6, p.147.
- DALE, H.H. (1935) - Pharmacology and nerve endings.
Proc. Roy. Soc. Med., t.28, p.319.

- DALE, H.H. (1937) - Transmission of nervous effects by acetylcholine.
Harvey Lect., t.32, p.229.
- DALE, H.H. (1938) - Acetylcholine as a chemical transmitter substance of the effects of nerve impulses.
- DALE, H.H., FELDBERG, W. et VOGT, M. (1936) - Release of acetylcholine at voluntary motor nerve endings.
J.of Physiol., t.86, p.353.
- DEL CASTILLO, J. et ENGBAECK, L. (1954) - Nature of the neuromuscular block produced by magnesium.
J.of Physiol., t.124, p.370.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1954a) - The effect of magnesium on the activity of motor nerve endings.
J.of Physiol., t.124, p.553.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1954b) - Quantal components of the end-plate potential.
J.of Physiol. t.124, p.560.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1954c) - Changes in end-plate activity produced by presynaptic polarisation.
J.of Physiol., t.124, p.586.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1954d) - The membrane changes produced by the neuro-muscular transmitter.
J.of Physiol., t.125, p.546.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1954e) - Statistical factors involved in neuro-muscular facilitation and depression.
J.of Physiol., t.124, p.574.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1955a) - On the localization of acetylcholine receptors.
J.of Physiol., t.128, p.157.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1955b) - Local activity at a depolarized nerve muscle junction.
J.of Physiol., t.128, p.396.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1956a) - Localization of active spots within the neuro-muscular junction of the frog.
J.of Physiol., t.132, p.630.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1956b) - Biophysical aspects of neuromuscular transmission.
Prog. Bioph., t.6, p.121.

- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1957a) - A study of curare action with an electrical micro-method.
Proc. Roy. Soc. B, t. 146, p. 339.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1957b) - Interaction at end-plate receptors between different choline derivatives.
Proc. Roy. Soc. B, t. 146, p. 369.
- DEL CASTILLO, J. et KATZ, B. (1957c) - A comparison of acetylcholine and stable depolarizing agents.
Proc. Roy. Soc. B, t. 146, p. 362.
- DEL CASTILLO, J. et STARK, L. J. (1952) - The effect of Ca^{++} ions on the motor end-plate potentials.
J. of Physiol., t. 116, p. 507.
- DENZ, F. A. (1953) - On the histochemistry of the myo-neural junction.
Brit. J. exp. Path., t. 34, p. 329.
- DE ROBERTIS, E. D. P. et BENNETT, H. S. (1955) - Some features of the submicroscopic morphology of synapses in frog and earth-worm.
J. Biophys. Bioch. Cytol., t. 1, p. 47.
- DETIBARN, W. D. et ROSENBERG, P. (1966) - Effects of ions on the efflux of acetylcholine peripheral nerve.
J. Gen. Physiol., t. 50, p. 447.
- DIXON, W. E. (1906) - Vagus inhibition.
Brit. Med. J., t. 2, p. 1807.
- DODGE, F. A. et RAHAMIMOFF, R. (1967) - Co-operative action of calcium ions in transmitter release at the neuro-muscular junction.
J. of Physiol., t. 193, p. 419.
- DU BOIS REYMOND, E. (1877) - Gesammelte Abhandl. d. allgem. Muskel- und Nervenphysik. t. 2, p. 700.
- DUDEL, J. et KUFFLER, S. W. (1961) - The quantal nature of transmission and spontaneous miniature potentials at the Crayfish neuro-muscular junction.
J. of Physiol., t. 155, p. 514.
- ECCLES, J. C. (1936) - Synaptic and neuro-muscular transmission.
Ergebn. Physiol., t. 38, p. 339.

- ECCLES, J.C. (1937) - Synaptic and neuro-muscular transmission.
Physiol.Rev., t.17, p.538.
- ECCLES, J.C. (1944) - The nature of synaptic transmission in a
sympathetic ganglion.
J.of Physiol., t.103, p.27.
- ECCLES, J.C. (1945) - An electrical hypothesis of synaptic and
neuro-muscular transmission.
Nature, t.156, p.680
- ECCLES, J.C. (1964) - The physiology of synapses. Springer-verlag
Berlin.
- ECCLES, J.C. et JAEGER, J.C. (1958) - The relationship between the
mode of operation and the dimensions of the junctional
regions at synapses and motor end-organs.
Proc.Roy.Soc.B, t.148, p.38.
- ECCLES, J.C., KATZ, B. et KUFFLER, S.W. (1941) - Nature of the end-
plate potential in curarized muscle.
J.Neurophysiol., t.4, p.362.
- ECCLES, J.C., KATZ, B. et KUFFLER, S.W. (1942) - Effect of eserine
on neuro-muscular transmission.
J.Neurophysiol., t.5, p.211.
- ECCLES, J.C. et MAGLADERY, J.W. (1937) - The excitation and respon-
se of smooth muscle.
J.of Physiol., t.90, p.31.
- ECCLES, J.C. et O'CONNOR, W.J. (1939) - Responses which nerve im-
pulses evoke in mammalian striated muscles.
J.of Physiol., t.97, p.44.
- ELLIOT, T.R. (1904) - On the action of adrenalin.
J.of Physiol., t.31, p.20 P.
- ELMQVIST, D. et FELDMAN, D.S. (1965) - Spontaneous activity at a
mammalian neuro-muscular junction in tetrodotoxin.
Acta Physiol.Scand., t.64, p.475.
- ENGBAEK, L. (1952) - The pharmacological action of Mg^{++} ions with
particular reference to the neuro-muscular and cardio-
vascular systems.
Pharmacol.Rev., t.4, p.396.
- EULER, U.S.(von) (1946) - A specific sympathomimetic ergone in
adrenergic nerve fibres (Sympathin) and its relations
to adrenalin and nor-adrenalin.
Acta Physiol.Scand., t.12, p.73.

- FALK, G. et FATT, P. (1964) - Linear electrical properties of striated muscle fibres observed with intracellular electrodes. Proc. Roy. Soc. B, t. 160, p. 69.
- FATT, P. et KATZ, B. (1951) - An analysis of end-plate potential recorded with an intracellular electrode. J. of Physiol., t. 115, p. 320.
- FATT, P. et KATZ, B. (1952) - Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings. J. of Physiol., t. 117, p. 109.
- FELDBERG, W. et GADDUM, J. H. (1934) - Chemical transmitter at synapses in a sympathetic ganglion. J. of Physiol., t. 81, p. 305.
- FELDBERG, W. et VARTIAINEN, A. (1934) - Further observations on the physiology and pharmacology of a sympathetic ganglion. J. of Physiol., t. 83, p. 103.
- FENG, T. P. (1936) - The response of muscle to prolonged electric current. Chin. J. Physiol., t. 10, p. 33.
- FENG, T. P. (1938) - Further observations on propagation of veratrine contracture. Chin. J. Physiol., t. 13, p. 239.
- FENG, T. P. (1940) - Studies on the neuro-muscular junction XVIII. Local potentials around neuro-muscular junctions induced by single and multiple volleys. Chin. J. Physiol., t. 15, p. 367.
- FENG, T. P. (1941) - Studies on the neuro-muscular junction XXVI. Changes in the end-plate potential during and after prolonged stimulation. Chin. J. Physiol., t. 16, p. 341.
- FORBES, A., RAY, L. H. et GRIFFITH, F. R. (1923) - The nature of the delay in the response to the second of two stimuli in nerve and in the nerve muscle preparation. Amer. J. Physiol., t. 66, p. 553.
- FOREL, A. (1887) - Einige Hirnanatomische Betrachtungen und Ergebnisse. Arch. Psychiat. Nervenkr., t. 18, p. 162.
- FURSHPAN, E. J. (1956) - The effects of osmotic pressure changes on the spontaneous activity at motor nerve endings. J. of Physiol., t. 134, p. 689.

- FURSHPAN, E.J. et POTTER, D.D. (1957) - Mechanism of nerve-impulse transmission at a crayfish synapse.
Nature, Lond., t.180, p.342.
- FURUKAWA, T.Y. et FURSHPAN, E.J. (1963) - Two inhibitory mechanisms in the Mauthner neurons of Golgfish.
J. Neurophysiol., t.26, p.140.
- FURUKAWA, T.Y., SASAOKA, T. et HOSOYA, Y. (1959) - Effects of tetrodotoxin on the neuro-muscular junction.
Jap. J. Physiol., t.9, p.143.
- GAGE, P.W. et QUASTEL, D.M.J. (1965) Influence of sodium ions on transmitter release.
Nature, t.5, p.1047.
- GAGE, P.W. et QUASTEL, D.M.J. (1966) - Competition between sodium and calcium ions in transmitter release at mammalian neuromuscular junction.
J. of Physiol., t.185, p.95.
- GOLDMAN, D.E. (1943) Potential, impedance and rectification in membranes.
J. Gen Physiol., t.27, p.37.
- GOLDSTEIN, A. (1952) A relationship between the rate of attaining equilibrium and the velocity constant of the reverse reaction in certain enzyme-inhibitor systems.
Experiencia, t.8, p.442.
- GOLGI, C. (1890) - Über den feineren Bau des Rückenmarkes.
Anat.Anz., t.5, p.372.
- GOLGI, C. (1891) - Le réseau nerveux diffus des centres du système nerveux. Ses attributs physiologiques. Méthode suivie dans les recherches histologiques.
Arch. Ital. Biol., t.15, p.434.
- GOPFERT, H. et SCHAEFER, H. (1938) - Über den direkt und indirekt eiregte Aktionstrom und die Funktion den motorischen Endplatt.
Pflüger Arch., t.239, p.597.
- GRANIT, R. et SKOGLUND, S. (1945) - Facilitation, inhibition and depression at the "artificial synapse" formed by the cut end of a mammalian nerve.
J. of Physiol., t.103, p.435.

- HAGIWARA,S. et TASAKI,I. (1957) - Demonstration of the two stable potential states in the Squid giant axon under tetra - ethyl-ammonium.
J.Gen.Physiol., t.40,p.859.
- HAGIWARA,S. et TASAKI,I. (1958) - A study of the mechanism of impulse transmission across the giant synapse of the Squid.
J. of Physiol., t.143, p.114.
- HELD,H. (1897) -Beiträge zur Struktur der nervenzellern und ihrer fortsatze Zweite Abhandlung.
Arch.Anat.Physiol (Lpz.),t.21, p.204.
- HELD,H. (1905) - Zur Kenntniss einer neurofibrillaren continuitat im Centralnervensystem der Wirbelthiere.
Arch.Anat.Physiol.(Lpz),t.29,p.55.
- HELD,H.(1909) - Die Entwicklung des nervengerwehes,
S. 378, Leipzig 1909.
- HERMANN,H. (1879) - Handb. Physiol. Nervensyst., Vogel, Leipzig.
- HISS,XW. (1836) - Zur geschichte des menschlichen Rückenmarks und der nervenwurzeln.Leipzig.
- HISS,W. (1889) - Die neuroblasten und deren Entstehung im embry-onalen mark.
Abh.math.Physik.Kl Sächs Akad.Wiss, t.15, p.311.
- HODGKIN,A.L. (1951) The ionic basis of electrical activity in n nerve and muscle.
Biol.Rev.,t.26, p.339.
- HODGKIN,A.L. et HUXLEY,A.F. (1952) - A qua,titative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.
J. of Physiol.,t.117, p.500.
- HODGKIN,A.L. et KATZ,B. (1949) - The effect of sodium ions on t the electrical activity of the giant axon of the Squid.
J. of Physiol.,t.108, p.37.
- HUBBARD,J.I. (1961) - The effect of calcium and magnesium on the spontaneous release of transmitter from mammalian motor nerve endings.
J. of Physiol.,t.159, p.507.
- HUBBARD,J.L. et KWANBUNBUMPEN,S. (1968) Evidence for the vesicle hypothesis.
J. of Physiol.,t.194, p.407.
- HUNT,C.C. et KUFFLER,S.W. (1950) - Stretch receptor discharges during the muscle contraction.
J. Pharmacol.,t.98, p.96.

- HUNT,C.C. et KUFFLER,S.W. (1950) - Stretch receptor discharges during muscle contraction.
J. Pharmacol.,t. 98, p.96.
- HUTTER,O.F. et KOSTIAL,K. (1954) - Effects of magnesium and calcium ions on the release of acetylcholine.
J. of Physiol.,t.124, p.234.
- JENKINSON,D.H. (1957) - The nature of the antagonism between calcium and magnesium at the nerve muscle junction.
J. of Physiol.,t.138, p.434.
- JENKINSON,D.H. (1960) - The antagonism between tubocurarine and substances which depolarize the motor end-plate.
J. of Physiol., t.152, p.309.
- KATZ,B. (1942) - Impedance changes in frog's muscle associated with electrotonus and E.P.P.
J. neurophysiol.,t.5, p.169.
- KATZ,B. (1948) - The electrical properties of the muscle fibre membrane.
Proc.Roy.Soc.,t.135, p.506.
- KATZ,B. (1958) - Microphysiology of the neuromuscular junction.
John Hopkins Hosp. Bull.,t.102, p.275.
- KATZ,B. (1962) - The transmission of impulses from nerve to muscle and the subcellular unit of synaptic action.
Proc.Roy.Soc.,t.155, p.455.
- KATZ,B. (1966) Nerve,muscle and synapse,Mac Graw-Hill,Inc.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1964) - Localization of calcium action at the nerve muscle junction.
J. of Physiol.,t.171, p.10P.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1965a) - Propagation of electric activity in motor nerve terminals,
Proc.Roy.Soc.,t.161, p.453.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1965b) -The measurement of synaptic delay and the time course of acetylcholine release at the n neuro-muscular junction.
Proc.Roy.Soc.,B.,t.161, p.483.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1965c) - The effect of calcium on acetylcholine release from motor nerve terminals.
Proc.Roy.Soc.,B.,t.161, p.496.

- KATZ,B. et MILEDI,R. (1965d) - The effect of temperature on the synaptic delay at the neuro-muscular junction.
J. of Physiol., t.181, p.656.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1967a) - Modification of transmitter release by electrical interference with motor nerve endings.
Proc.Roy.Soc.,B., t.167,p.1.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1967b) - Tetrodotoxin and neuromuscular transmission.
Proc.Roy.Soc.,B., t.167, p.8.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1967c) - The release of acetylcholine from nerve ending by graded electric pulses.
Proc.Roy.Soc.,B., t.167, p.23.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1967d) - The timing of calcium action during neuromuscular transmission.
J. of Physiol., t.189,p.535.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1967e) A study of synaptic transmission in the absence of nerve impulses.
J. of Physiol., t.192, p.407.
- KATZ,B. et MILEDI,R. (1967f) - Ionic requirements of synaptic transmitter release.
Nature, t.215, p.651.
- KATZ,B. et SCHMITT,O.H. (1939) - Electric interaction between two adjacent nerve fibres.
J.of.Physiol., t.97, p.471.
- KATZ,B. et THESLEFF,S. (1957a) - On the factors which determine the amplitude of the "m epp".
J.of Physiol., t.137, p.267.
- KATZ,B. et THESLEFF,S. (1957b) - A study of the desensitization produced by acetylcholine at the motor end-plate.
J.of Physiol., t.138, p.63.
- KELLY,J.S. (1965) - Antagonism between Na^+ and Ca^{++} at the neuromuscular junction.
Nature, t.205, p.296.
- KOELLE,G.B. et FRIEDENWALD,J.S. (1949) - A histochemical method for localizing cholinesterase activity.
Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.), t.70, p.617.
- KOELLE,G.B. et GILMAN,A. (1949) - Anticholinesterase drugs.
J.Pharm.exp.Ther., t.95, p.166.

- KOKETSU, K. (1958) - Action of tetraethyl-ammonium chloride on neuro-muscular transmission in frogs.
Amer.J. Physiol., t.193, p.213.
- KRAUSE, W. (1863) - Zeitscher.f.Rat.Med., t.18, p.152.
- KRNJEVIC, K. et MITCHELL, J.F. (1961) - The release of acetylcholine in the isolated rat diaphragm.
J.of Physiol., t.155, p.246.
- KUFFLER, S.W. (1942) - Electric potential changes at an isolated nerve-muscle junction.
J.Neurophysiol., t.5, p.18.
- KUFFLER, S.W. (1943) - Specific excitability of the end-plate region in normal and denervated muscle.
J. Neurophysiol., t.6, p.99.
- KUFFLER, S.W. (1944) - The effect of calcium on junction neuro-muscular.
J.Neurophysiol., t.7, p.17.
- KUFFLER, S.W. (1948) - Physiology of neuro-muscular junction : electrical aspects.
Fed.Proc., t.7, p.437.
- KUFFLER, S.W. (1949) - Transmitter mechanism at the neuro-muscular junction.
Arch.Sci.Physiol., t.3, p.585.
- KUFFLER, S.W. (1952) - Transmission processes at nerve muscle junctions.
Modern trends in physiology and biochemistry, N.Y. Academic Press, p.277.
- KUHNE, W. (1859) - Müllers Arch. p.564.
- KUHNE, W. (1863) - Cité d'après COPPEE, 1943.
- KUSANO, K., LIVENGGOOD, D.R. et WERMAN, R. (1967) - Tetraethyl-ammonium: effect of presynaptic injection on synaptic transmission.
Science, t.155, p.1257.
- LANGLEY, J.N. (1907) - On the contraction of muscle, chiefly in relation to the presence of receptive substances ..
J.of Physiol., t.36, p.347.
- LANGLEY, J.H. (1909) - On the contraction of muscle, chiefly in relation to the presence of receptive substances.IV. Effect of curare and of some other substances on the nicotine response of the sartorius and gastrocnemius muscles of the frog.
J.of Physiol., t.39, p.235.

- LAPICQUE, L. (1936) - Le mécanisme physique et le mécanisme chimique de la transmission nerveuse.
Centre de documentation universitaire, Paris.
- LAPICQUE, L. (1938) - Influence des conditions d'électrodes sur la climalyse.
C.R.Soc.Biol., t.129, p.146.
- LILEY, A.W. (1956) - The effects of presynaptic depolarisation on the spontaneous activity at the mammalian neuromuscular junction.
J.of Physiol., t.134, p.427.
- LILLIE, R.S. (1922) - Transmission of physiological influences in protoplasmic system specially nerve.
Physiol.Rev., t.2, p.1.
- LOEWI, O. (1921) - Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenzirkung.
Pflüg.Arch.Physiol., t.189, p.239.
- LORENTO de NO, R. (1944) - Effects of choline and acetylcholine upon peripheral nerve fibres.
J.Comp.Cell.Physiol., t.24, p.85.
- LUTTGAU, H.C. et NIEDERGERKE, R. (1958) - The antagonism between calcium and sodium ions on the frog heart.
J.of Physiol., t.143, p.486.
- MAMBRINI, J. (1964) - Appareil pour l'étirage des microélectrodes de verre.
J.de Physiol., t.56, p.469.
- MAMBRINI, J. et BENOIT, P.R. (1964) - Action du calcium sur la jonction neuro-musculaire chez la Grenouille.
C.R.Soc.Biol., t.158, p.1454.
- MARNAY, A. et NACHMANSON, D. (1937) - Sur la répartition de la cholinestérase dans le muscle couturier de la Grenouille.
C.R.Soc.Biol., t.125, p.41.
- MARRAZZI, A.S. et LORENTE de NO, R. (1944) - Interaction of neighbouring fibres in myelinated nerve.
J. Neurophysiol., t.7, p.83.
- MARTIN, A.R. (1955) - A further study of the statistical composition of the end-plate potential.
J.of Physiol., t.130, p.114.

- MARTIN, A.R. et PILAR, G. (1963) - Dual mode of synaptic transmission in the avian ciliary ganglion.
J. of Physiol., t.168, p.443.
- MASHIMA, H. et WASHIO, H. (1964) - The effect of zinc on the electrical properties of membrane and the twitch tension in frog muscle fibres.
Jap.J.Physiol., t.14, p.538.
- MATTHEWS, A.P. (1902) - Science, t.15, p.492.
- MEVES, H. (1963) - Die Wirkung von NiCl_2 auf den isolierten Ranvierschen Schnürring.
Pflüg.Arch.Physiol., t.278, p.273.
- MILEDI, R. (1959) - Acetylcholine sensitivity of partially denervated frog muscle fibres.
J.of Physiol., t.147, p.45.
- MILEDI, R. (1960) - The acetylcholine sensitivity of frog muscle fibres after complete or partial denervation.
J.of Physiol., t.151, p.1.
- MILEDI, R. (1966) - Strontium as a substitute for calcium in the process of transmitter release at the neuro-muscular junction.
Nature, t.212, p.1233.
- MILEDI, R. (1967) - Spontaneous synaptic potentials and quantal release of transmitter in the stellate ganglion of the squid.
J.of Physiol., t.192, p.379.
- MILEDI, R. et SLATER, R. (1963) - A study of rat nerve muscle junction after degeneration of the nerve.
J.of Physiol., t.169, p.23P.
- MILEDI, R. et SLATER, R. (1966) - The action of calcium on neuronal synapses in the squid.
J.of Physiol., t.184, p.473.
- MILEDI, R. et SLATER, R. (1968) - Electrophysiology and electron microscopy of rat nerve muscle junction after nerve degeneration.
Proc.Roy.Soc., t.169, p.289.
- MINZ, B. (1955) - The role of humoral agents in nervous activity.
Springfield (III) : Ch.C. Thomas, 230 p.

- MONNIER, A.M. (1936) - Physical and chemical aspects of neuro-muscular transmission.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., t.4, p.111.
- MONNIER, A.M. et BACQ, Z.M. (1935) - Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome.
XVI. Dualité du mécanisme de la transmission neuro-musculaire de l'excitation chez le muscle lisse.
Arch. Int. Physiol., t.40, p.485.
- MOSHER, H.S., FUHRMAN, F.A., BUCHWALD, H.D. et FISCHER, H.G. (1964) - Tarichatoxin-tetrodotoxin : a potent neurotoxin.
Science, t.144, p.1100.
- NARAHASHI, T., DEGUCHI, T., URAKAWA, N. et OHKUBO, Y. (1960) - Stabilization and rectification of muscle fiber membrane by tetrodotoxin.
Amer. J. Physiol., t.198, p.934.
- NASTUK, W.L. (1953) - The electrical activity of the muscle cell membrane at the neuro-muscular junction.
J. Cell. Comp. Physiol., t.42, p.249.
- NASTUK, W.L. et ALEXANDER, J.T. (1954) - The action of 3-hydroxy phenyldimethyl-ethylammonium (Tensilon) on neuro-muscular transmission in the frog.
J. Pharm. exp. Ther., t.111, p.302.
- PALAY, S.L. (1956) - Synapses in the central nervous system.
J. Biophys. Biochem. Cytol., t.2, p.193.
- RAHAMIMOFF, R. et COLOMO, F. (1967) - Inhibitory action of sodium ions on transmitter release at the motor end-plate.
Nature, t.215, p.1174.
- RAMON Y CAJAL, S. (1888) - Estructura de los centros nerviosos de las aves.
Rev. Trim. de Histologia normal y patologica, p.1.
- RAMON Y CAJAL, S. (1890) - Sur l'origine et les ramifications des fibres nerveuses de la moelle embryonnaire.
Anat. Anz., t.5, p.85.
- RAMON Y CAJAL, S. (1903) - Un sencillo método de coloración selectiva del retículo protoplasmico y sus efectos en los diversos órganos nerviosos.
Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid, t.2, p.129.
- RAMON Y CAJAL, S. (1934) - Les preuves objectives de l'unité anatomique des cellules nerveuses.
Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid, t.29, p.1.

- RANKE, J. (1871) - Die Blutverteilung und der Tätigkeitswechsel der Organe.
Leipzig, p.182.
- RIKER, W.F. (1953) - Excitatory and anti-curare properties of acetylcholine and related quaternary ammonium compounds at the neuro-muscular junction.
Pharmacol.Rev., t.5, p.1.
- ROBERTS, D.V. et THESLEFF, S. (1965) - Neuro-muscular transmission in vivo and the actions of decamethonium : a micro-electrode study.
Acta Anaesthesiologica scandinavica, t.9, p.165.
- ROSENBLUETH, A. (1950) - The transmission of nerve impulses at neuro effector junctions and peripheral synapses.
N.Y. John Wiley and Sons, 325p.
- ROSENTHAL, J. (1878) - Les nerfs et les muscles.
Germer Baillère et Cie, Paris.
- SCHMIDT, H. (1965) - Die Wirkung von Tetraäthylammonium chlorid auf das Membran potential und den Membranwiderstand von Bündeln markhaltiger Nervenfasern.
Pflüg.Arch., t.222, p.351.
- SCHMIDT, H. et STÄMPFLI, R. (1964) - Die Wirkung von Tetraäthylammoniumchlorid (TEA) auf die elektrischen Eigenschaften der Schnürringmembran.
Pflüg.Arch., t.272, p.36.
- SCHMIDT, H. et STÄMPFLI, R. (1966) - Die Wirkung von tetraethylammonium chlorid auf den Einzelnen Ranvierschen Schnürring.
Pflüg.Arch., t.287, p.311.
- SHERRINGTON, C.S. (1906) - Integrative action of the nervous system.
New Haven and London Yale University press, 411p.
- SIMONART, A. (1935) - Arch.Inter.Pharm.Ther., t.49, p.302 et t.51, p.383.
- SPYROPOULOS, C.S. et BRADY, R.O. (1959) - Prolongation of response of node of Ranvier by metal ions.
Science, t.129, p.1366.
- TAKAHASHI, H., MURAI, T. et SASAKI, T. (1960) - Some chemical aspect of plateau formation in the action current of the myelinated nerve fibre.
Jap.J.Physiol., t.10, p.280.

- TAKAHASHI, H., USUDA, S. et EHARA, S. (1962) - Some factors influencing the plateau formation in Co-treated or Ni-treated single myelinated fibres.
Jap.J.Physiol., t.12, p.545.
- TAKEUCHI, N. (1958) - The effect of temperature on the neuromuscular junction of the frog.
Jap.J.Physiol., t.8, p.391.
- TAKEUCHI, N. (1963) - Effects of calcium on the conductance change of the end-plate membrane during the action of transmitter.
J.of Physiol., t.167, p.141.
- TAKEUCHI, A. et TAKEUCHI, N. (1959) - Active phase of frog's end-plate potential.
J.Neurophysiol., t.22, p.395.
- TAKEUCHI, A. et TAKEUCHI, N. (1960) - On the permeability of end-plate membrane during the action of transmitter.
J.of Physiol., t.154, p.52.
- TAKEUCHI, A. et TAKEUCHI, N. (1961) - Changes in potassium concentration around motor nerve terminals produced by current flow, and their effects on neuro-muscular transmission.
J.of Physiol., t.155, p.46.
- TAKEUCHI, A. et TAKEUCHI, N. (1962) - Electrical changes in pre- and postsynaptic axons of the giant synapse of Loligo.
J.Gen.Physiol., t.45, p.1181.
- TASAKI, I. (1959) - Demonstration of two stable states of the nerve membrane in potassium rich media.
J.of Physiol., t.148, p.306.
- TASAKI, I. et MIZUGUCHI, K. (1949) - The changes in the electric impedance during activity and effect of alkaloids and polarization upon the bioelectric processes in the myelinated nerve fibre.
Bioch.Biophys.Acta, t.3, p.484.
- TSCHIRIEV, F. (1879) - cité d'après Lapicque, 1938.
- Von BEZOLD, (1859) - Untersuchungen über die elektrische Erregung der Nerven und Muskeln.
Allgemeine Med.Centralzeitung, t.25, p.266.
- VULPIAN, A. (1882) - Leçon sur l'action physiologique des substances toxiques médicamenteuses.
Doin, Paris.

.. WOLFF, M. (1905) - Zur kenntnis der Heldschen Nervenendfüße.
J. Phsychol. Neurol. (Leipzig), t.4, p.144.

ZAIMIS, E. J. (1953) - Motor end-plates differences as a determining factor in the mode of action of neuro-muscular blocking substances.
J. of Physiol., t.122, p.238.

————— 0 —————

E R R A T A

Page

2	ligne 20 :lire "le pôle récepteur" au lieu de "rôle"
5	" 20:lire WOLFF au lieu de WOLF
9	" 4 :lire VARTIAINEN au lieu de VERTIAINEN
10	" 19 :lire MARRAZZI au lieu de MARAZZI
14	" 9 :lire "du côté" au lieu de "au côté"
24	" 19 :lire ZAIMIS au lieu de AIMIS
27	" 15 :lire 1956b
"	" 20 :lire 1956a
32	" 26 :lire 1954b
36	" 14 :lire RAHAMIMOFF au lieu de RAHAMI
"	" 22 :lire BIRKS au lieu de BURKS
39	" 8 :lire 1965a
49	" 6 :lire "attribuée" au lieu de "attribué"
58	" 16 :lire 40 microsecondes

T A B L E D E S M A T I E R E S

	Page
INTRODUCTION	1
HISTORIQUE ...	
I.- EVOLUTION DES IDEES SUR LA TRANSMISSION	
SYNAPTIQUE	4
II.- TRAVAUX CONTEMPORAINS SUR LA JONCTION NEURO-	
MUSCULAIRE DE BATRACIEN	13
Données cytologiques	13
Fonctionnement de la synapse neuro-	
musculaire	16
TECHNIQUES	50
RESULTATS EXPERIMENTAUX	62
CHAPITRE I : MODIFICATION DE LA DUREE DU POTENTIEL	
D'ACTION PRESYNAPTIQUE	63
CHAPITRE II : MODIFICATION DU DECOURS TEMPOREL DE	
LA LIBERATION DU MEDiateur	87
A.- MODIFICATION DU DELAI SYNAPTIQUE MINIMUM	87
B.- MODIFICATION DU DECOURS TEMPOREL DE LA	
PROBABILITE DE LIBERATION DU MEDiateur...	93

CHAPITRE III : MODIFICATION DE LA QUANTITE DE

MEDIATEUR LIBERE 105

A.-- LIBERATION DU MEDiateur PAR LE

POTENTIEL D'ACTION PRESYNAPTICQUE 105

I.--Modification du potentiel de plaque

motrice 105

II.--Modification du contenu quantique

moyen du potentiel de plaque motrice 113

III.--Modification de la relation entre

la quantité de médiateur libéré et

la concentration extérieure en calcium125

B.-- LIBERATION DU MEDiateur EN L'ABSENCE DE

POTENTIEL D'ACTION PRESYNAPTICQUE 131

CHAPITRE IV : EFFETS POSTSYNAPTICQUES 141

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS 149

RESUME 156

BIBLIOGRAPHIE .

Errata.

